

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vorstand: Professor Dr. N. Zöllner

Einfluß oraler Purinzufuhr auf
Harnsäurebildung und Harnsäure-
umsatz bei gesunden Versuchspersonen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554824_0105

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vorstand: Professor Dr. N. Zöllner

Einfluß oraler Purinzufuhr auf
Harnsäurebildung und Harnsäure-
umsatz bei gesunden Versuchspersonen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Bibiana Gondokusumo-Zenker
aus Semarang/Indonesien

München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Gröbner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Prof. Dr. R. Lamerz

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. W. Löffler

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.02.1987

Inhaltverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1
2. Allgemeiner Teil	2
2.1. Endogene und exogene Harnsäuresynthese	2
2.1.1. Endogene Harnsäuresynthese	2
2.1.2. Exogene Harnsäuresynthese	6
2.2. Serumkonzentration der Harnsäure bei Gesunden und Gichtpatienten	6
2.3. Serumkonzentration der Harnsäure unter purinfreier Diät	7
2.4. Poolgröße und Harnsäureumsatz	7
2.5. Ausscheidung der Harnsäure	8
3. Eigene Untersuchungen	9
3.1. Methodik	9
3.1.1. Versuchspersonen	9
3.1.2. Diät und Purinzulage	10
3.1.3. Bestimmung der endogenen Harnsäuresynthese mittels Doppelmarkierungstechnik - Prinzip der Methode	12
3.1.4. Versuchsablauf	14
3.1.5. Methoden	15
3.1.5.1. Harnsäurebestimmung	15
3.1.5.2. Harnsäureisolierung	18
3.1.5.3. Harnsäureaufschluß zur massenspektro- metrischen ^{15}N - und ^{13}C -Bestimmung	19
3.1.5.4. Berechnung von Poolgröße, Umsatz und endogener Synthese der Harnsäure	21
3.2. Ergebnisse	23
3.2.1. Harnsäurewerte	23
3.2.2. Poolgröße und Umsatz der Harnsäure	23
3.2.3. Endogene Harnsäuresynthese	36

4. Diskussion	47
4.1. Harnsäurepool und Harnsäureumsatz gesunder junger Versuchspersonen	47
4.2. Endogene Harnsäurebildung unter Zufuhr von Nahrungspurinen	51
5. Zusammenfassung	54
6. Literaturverzeichnis	55
Danksagung	
Lebenslauf	

1. Einleitung

Der Einfluß der Ernährung auf den Harnsäurestoffwechsel war lange vor der Entdeckung der pathogenetischen Zusammenhänge durch Garrod (1848, 1863) bekannt. Die Auswirkung der Ernährung auf den Harnsäurestoffwechsel wurde um die Jahrhundertwende systematisch untersucht, speziell in Deutschland, wo Burian und Schur (1900, 1903) den Begriff der endogenen und exogenen Uratquote prägten. Sie hatten zunächst beobachtet, daß sich unter einer purinarmen Kost ein konstanter Wert der renalen Harnsäureausscheidung von rund 450 - 500 mg pro Tag einstellt, eine Menge, die offenbar nicht mehr aus zugeführten Harnsäurevorläufern entstanden sein konnte, sondern der körpereigenen Harnsäureproduktion entstammen mußte. Genauere Daten ließen sich unter purinfreier flüssiger Formeldiät gewinnen (Zöllner et al., 1972). Dabei wurde eine Harnsäureausscheidung von 343 ± 96 mg pro Tag erreicht. Außerdem wurde die Auswirkung von exogenen Purinzulagen auf die Harnsäureausscheidung unter purinfreier, isoenergetischer Formeldiät untersucht. Es kam zu einem dosisabhängigen linearen Anstieg von Plasmaharnsäure und renaler Harnsäureausscheidung. Zöllner und Gröbner (1977) schlossen aus diesen experimentellen Untersuchungen, daß die endogene Harnsäurebildung durch oraler Purinzulage nicht beeinflusst wird.

In der vorliegenden Arbeit sollten diese indirekten Ergebnisse mittels Einsatz markierten Glyzins, eines Bausteins der Purinbiosynthese, überprüft werden. Die Ergebnisse der Bestimmung von Harnsäurepool und Harnsäureumsatz sollten mit früheren Untersuchungen verglichen werden, um die Veränderungen des Harnsäurestoffwechsels unter Purinzulage bei Männern und Frauen zu beschreiben.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Endogene und exogene Harnsäuresynthese

2.1.1. Endogene Harnsäuresynthese

Der menschliche Organismus besitzt die Fähigkeit, den Purinring aus einfachen Bausteinen aufzubauen. Die Purinbiosynthese beginnt mit der Pyrophosphorylierung von Ribose-5-Phosphat. Das entstehende 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (PRPP) ist Substrat der 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat-Amidotransferase (PRPP-Amidotransferase), die die Amidierung von PRPP zu 5-Phosphoribosylamin katalysiert. Bei diesem ersten spezifischen Schritt der Purinbiosynthese liefert Glutamin das Stickstoffatom 9 des Purinringes. Danach liefern Schritt für Schritt Glyzin das Kohlenstoffatom 4 und 5 sowie das Stickstoffatom 7, Formiat das Kohlenstoffatom 2 und 8, Kohlendioxyd das Kohlenstoffatom 6, Aspartat das Stickstoffatom 1 und ein weiteres Glutamin das Stickstoffatom 3. Nach dieser Reihe von Zwischenschritten entsteht als wichtiges Endprodukt Inosin-5-Monophosphat (IMP). Ein Schema der Purinbiosynthese ist in Abb. 1 dargestellt. IMP ist das Ausgangsprodukt für die Synthese der anderen Purinnukleotide Adenosin-5-Monophosphat (AMP) und Guanosin-5-Monophosphat (GMP), welche durch Aminierung und Oxydation aus IMP entstehen.

Die Purinbiosynthese wird reguliert durch

- die intrazelluläre Konzentration von PRPP (5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat),
- die intrazelluläre Konzentration von AMP (Adenosin-5-Monophosphat), IMP (Inosin-5-Monophosphat) und GMP (Guanosin-5-Monophosphat),
- die Aktivität der Glutamin-Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase.

Eine erhöhte intrazelluläre PRPP-Konzentration steigert die Purinbiosynthese, indem sie die katalytisch inaktive Form der PRPP-Amidotransferase in die katalytisch aktive Form umwandelt. AMP, IMP und GMP haben die gegenteilige Wirkung und hemmen dadurch die Purinbiosynthese. Als Folge davon steigert sich die Konzentration von PRPP, die diese Hemmung aufhebt (Holmes et al., 1973).

Beim Lesch-Nyhan-Syndrom (Defekt der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase) fällt die Nukleotidsynthese aus präformierten Purinbasen und PRPP aus. Zur Aufrechterhaltung normaler Nukleotidkonzentrationen wird deshalb die Purinbiosynthese gesteigert. Die Position von PRPP, Purinnukleotiden und PRPP-Amidotransferase innerhalb des Purinstoffwechsels ist in Abb. 2 dargestellt.

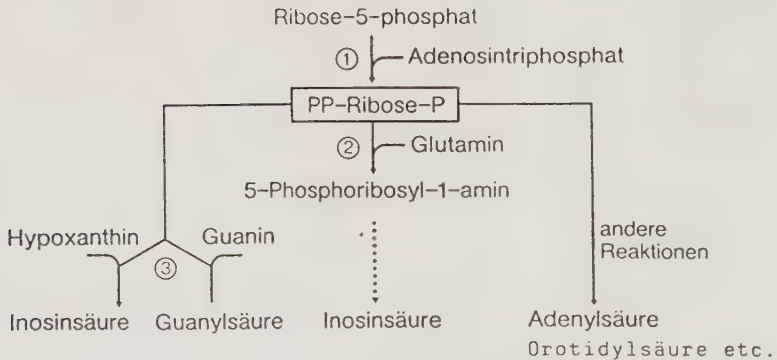


Abb. 2: Die Position von PRPP, Purinnukleotiden und PRPP-Amidotransferase im Purinstoffwechsel

Die Nukleotide IMP, AMP und GMP werden durch Nukleotidasen und Phosphatasen zu den entsprechenden Nukleosiden und Orthophosphat hydrolysiert, danach durch die Nukleosid-Phosphorylase zu den Purinbasen abgebaut, und zwar Guanosin zu Guanin und Inosin zu Hypoxanthin. Adenosin wird nicht zu Adenin abgebaut, sondern zunächst zu Inosin desaminiert. Guanin wird durch Guanase, Hypoxanthin durch Xanthinoxydase in Xanthin überführt. Anschließend wird Xanthin durch Xanthinoxydase zu Harnsäure oxydiert (Abb. 3).

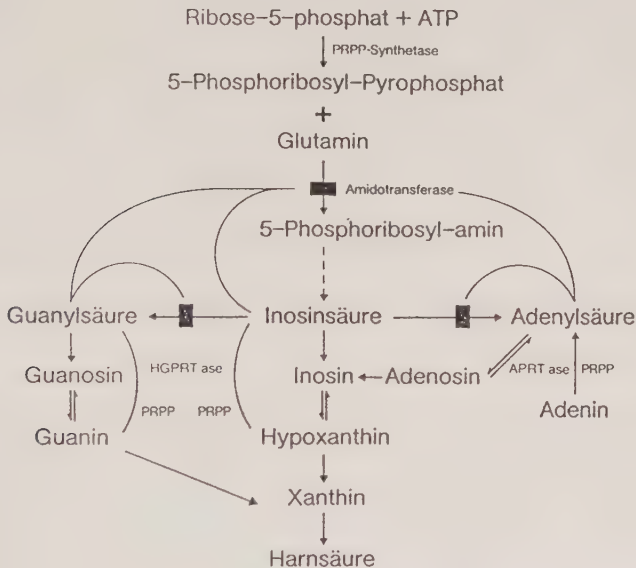


Abb. 3: Schematische Darstellung des Purinstoffwechsel und seiner Regulation (Gröbner et al., 1980)

 = Hemmung der Reaktion

2.1.2. Exogene Harnsäuresynthese

Exogene Harnsäure entsteht aus den mit der Nahrung zugeführten Purinen. Proteolytische Enzyme bauen die Nahrungsnukleoproteine im Darm zu Nukleinsäuren ab. Teilweise werden sie durch Nukleasen und Phosphodiesterasen zu Nukleotiden abgebaut und dann zu Nukleosiden durch Nukleotidasen und Phosphatasen dephosphoryliert. Die Nukleoside können aus dem Darm resorbiert oder weiter durch Nukleosidphosphorylase zu freien Basen umgewandelt werden. Da die Dünndarmmukosa sowohl Nukleosidphosphorylase als auch Xanthinoxidase enthält, ist sie in der Lage, die Nahrungsnukleoproteine zu Harnsäure abzubauen (Wyngaarden und Kelly, 1976). Die Xanthinoxidase des Dünndarmes in vitro wird durch Purinnukleoside aktiviert (Gröbner et al., 1979). Die Resorption einzelner Nahrungspurine ist unterschiedlich. Einige Untersuchungen zeigten, daß die Resorption der Mononukleotide besser als die von RNS ist, während DNS schlechter als RNS resorbiert wird. Die unterschiedliche Hydrolysierbarkeit einzelner Nahrungspurine im Darmlumen wurde als Ursache diskutiert (Zöllner et al., 1972; Griebisch und Zöllner, 1974).

2.2. Serumkonzentration der Harnsäure bei Gesunden und Gichtpatienten

Die Serumharnsäurekonzentration ist wichtiger Parameter bei Untersuchungen des Harnsäurestoffwechsels. Aufgrund der Konstanz des Harnsäureräumen ist sie unter physiologischen Bedingungen proportional der Gesamtmenge der im Körper vorhandenen Harnsäure, die als Harnsäurepool bezeichnet wird. Bei tophöser Gicht ist die Serumharnsäurekonzentration Ausdruck einer Mindestgröße des Harnsäurepools, nämlich der in den Körperflüssigkeiten gelösten Menge, und läßt keine Rückschlüsse auf den tatsächlichen Harnsäuregehalt des Körpers zu.

Die durchschnittliche Serumharnsäurekonzentration hängt von unterschiedlichen Faktoren wie Alter, Geschlecht und Ernährungsgewohnheiten ab. Die Angabe des Normalwertbereiches der Serumharnsäurekonzentration kann nach statistischen, physikochemischen und klinischen Gesichtspunkten erfolgen. Für diagnostische Zwecke sind

die physikochemischen und klinischen Aspekte wichtig, nämlich die obere Normgrenze der Löslichkeit von Natriumurat von 6,4 mg/100 ml bei 37°C sowie die Tatsache, daß unterhalb dieser Grenze Gichtanfälle und Tophi praktisch nicht vorkommen.

2.3. Serumkonzentration der Harnsäure unter purinfreier Diät

Eine purinfreie Ernährung ist am besten durch eine Formeldiät erreichbar. Es ist dabei zu beachten, daß die Diät isoenergetisch ist, d.h. das Körpergewicht konstant bleibt, weil Änderungen der Energiezufuhr einen Einfluß auf den Harnsäurestoffwechsel haben. Es ist notwendig, die einzelnen Versuchsperioden solange fortzusetzen, bis ein Gleichgewicht der untersuchten Parameter erreicht ist. Unter einer isoenergetischen, purinfreien Formeldiät wurde bei 11 gesunden Versuchspersonen innerhalb von 10 Tagen ein Abfall des Serumharnsäurespiegels auf durchschnittlich $3,15 \pm 0,3$ mg/100 ml festgestellt (Zöllner und Griebisch, 1973).

2.4. Poolgröße und Umsatz der Harnsäure

Unter Harnsäurepool versteht man die Gesamtmenge der im Körper befindlichen Harnsäure. Sie ist von Zufuhr in und Ausfuhr aus dem Pool abhängig. Die Zufuhr in den Pool erfolgt durch

- Purinzufuhr mit der Nahrung (exogene Purine)
- Purinbiosynthese und Abbau der Nukleotide (endogene Purine)

Die Zufuhr in den Pool ist nicht von den Harnsäurekonzentrationen in den Körperflüssigkeiten abhängig und während des Tagesablaufes wegen der Zufuhr von Purinen mit der Nahrung nicht konstant. Die Ausfuhr aus dem Pool ist dagegen von der Harnsäurekonzentration im Serum abhängig und nimmt beim Gesunden mit zunehmender Serumharnsäurekonzentration zu, d.h. die renale Clearance steigt an. Die Poolgröße gesunder erwachsener Männer beträgt etwa 800 - 1600 mg und die der Frauen etwa 541 - 687 mg (Löffler, 1980). Bei töphöser Gicht kann die Menge bis auf über 30 g erhöht sein.

Der Harnsäureumsatz ist der pro Zeiteinheit umgesetzte Teil des Pools oder der Körperharnsäuremenge. Er kann durch verschiedene Faktoren

beeinflusst werden, z.B.

- körperliche Aktivität
- Fasten
- vermindertes Urinvolumen
- medikamentöse Einflüsse
- hormonelle Faktoren

Um den Harnsäureumsatz zu bestimmen, ist es nötig, im Stoffwechselgleichgewicht zu messen, weil nur dann die Zufuhr gleich der Ausfuhr ist. Der Tag ist hierfür als Zeiteinheit geeignet, weil jeweils nach 24 Stunden annähernd gleiche Stoffwechselbedingungen wieder erreicht werden. Die Einheit ist Pools/Tag oder mg/Tag.

Es ist zu erwähnen, daß die Harnsäureausscheidung im 24-Stunden-Urin nur einen Teil des Umsatzes widerspiegelt, da ein Anteil von 15 - 30 % in den Gastrointestinaltrakt sezerniert und dort bakteriell abgebaut wird. Eine direkte Messung des Gesamtumsatzes ist nur unter unphysiologischen Bedingungen (Bakteriostase des Darmes) möglich. Indirekt kann der Umsatz mittels Isotopenverdünnungsmethode bestimmt werden. Bei Kenntnis einiger physikochemischer und physiologischer Daten können Harnsäurepool und Harnsäureumsatz auch näherungsweise aus Serumharnsäurekonzentration, renaler Harnsäureausscheidung und Körpergewicht errechnet werden (Zöllner, 1960).

2.5. Ausscheidung der Harnsäure

Die Harnsäurebildung findet vorzugsweise in Leber und Dünndarm statt. Zu ungefähr 80 % erfolgt die Ausscheidung über die Nieren, 20 % der Harnsäure unterliegen nach Ausscheidung in den Magen-Darm-Trakt bakterieller Uricolyse. Die tägliche Harnsäureausscheidung ist ein Maß für den Purinumsatz, da die Harnsäure beim Menschen nicht weiter zu Allantoin abgebaut werden kann.

Bei der renalen Harnsäureausscheidung sind Filtration, Rückresorption und Sekretion beteiligt (Zöllner, 1960). Durch ihr Zusammenwirken ergibt sich bei normalem Harnsäurespiegel eine Harnsäureclearance von $8,7 \pm 2,5$ ml/min. Die Harnsäureausscheidung kann

durch verschiedene Stoffe beeinflusst werden, und zwar sowohl durch körpereigene Stoffe als auch durch Arzneimittel. Bei der Ketose des Hungernden und des Diabetikers, nach Alkoholgenuß (Laktatanstieg) und bei körperlicher Belastung (Laktatanstieg) wird die renale Harnsäureausscheidung gehemmt, und es kommt zum Anstieg des Harnsäurespiegels im Serum. Zu den Medikamenten, die den Harnsäureserumspiegel erhöhen können, gehören Diuretika sowie die Tuberkulostatika Pyrazinamid und Ethambutol. Urikosurisch wirken, außer den eigentlichen Urikosurika, zum Beispiel die Vitamin K-Antagonisten vom Dicumarol- und Phenylindandiontyp (Gröbner und Zöllner, 1976).

Die enterale Harnsäureausscheidung stellt den wichtigsten extrarenalen Ausscheidungsweg für Harnsäure beim Menschen dar. Die Harnsäure gelangt über Speichel, Magensaft, Galle, Pankreas- und Darmsekret ins Darmlumen. Dort wird sie durch bakterielle Enzyme bis zu NH_3 und CO_2 abgebaut. Eine erhöhte enterale Harnsäureausscheidung findet sich bei Patienten mit Niereninsuffizienz. Eine Zunahme der enteralen Harnsäureausscheidung auf Kosten der renalen scheint bei entzündlichen Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts aufzutreten. Sie kann auch bei gesunden die Größe der renalen Ausscheidung erreichen, wenn bei oraler Gabe hoher Dosen von Antibiotika die Darmflora zerstört wird (Löffler, 1980).

3. Eigene Untersuchungen

In der vorliegenden Arbeit wurde bei zwei Gesunden die endogene Harnsäurebildung mittels ^{15}N -markiertem Glyzin unter purinfreier Diät und unter oraler Purinzulage gemessen. Gleichzeitig wurden nach dem Isotopenverdünnungsprinzip (^{13}C -markierte Harnsäure) Poolgröße und Umsatz der Harnsäure bestimmt.

3.1. Methodik

3.1.1. Versuchspersonen

Versuchspersonen für diese Arbeit waren zwei gesunde Medizinstudenten (B.G., weiblich, K.M., männlich). Die Daten der Versuchspersonen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

	B.G.	K.M.
Geschlecht	weiblich	männlich
Alter	29	28
Gewicht (kg) - 1. Diätphase	54,5	61,8
Gewicht (kg) - 2. Diätphase	52,5	62,8
Größe (cm)	157	178
Körperoberfläche (m^2)	1,52	1,77

Tab. 1: Daten der Versuchspersonen

3.1.2. Diät und Purinzulage

Wir verwendeten eine halbsynthetische, isoenergetische, purinfreie Formeldiät, die sich aus 15 % Eiweiß, 30 % Fett und 55 % Kohlenhydraten zusammensetzte. Die folgenden Berechnungen gelten für 1000 kcal.

Eiweiß (15 %): 150 kcal werden durch Eiweiß gedeckt. Da 1 g Eiweiß einen Brennwert von 4,1 kcal hat, benötigt man 36,6 g Eiweiß. Wir verwendeten dazu Magermilchsprühpulver (MMSP; Bayerische Milchindustrie, Landshut), das 35 % Eiweiß enthält. Für 150 kcal aus Eiweiß benötigt man somit 104,5 g MMSP.

Fett (30 %): Da Fett einen Brennwert von 9,3 kcal hat, benötigt man 32,3 g Fett, um 300 kcal zu erhalten. Im MMSP sind 0,73 % Fett enthalten. 104,5 g MMSP liefern also 0,76 g Fett. 31,5 g Fett wurden in Form von Livio-Öl (Union Deutsche Lebensmittelwerke, Hamburg) zugeführt, das zu nahezu 100 % aus Fett besteht. 1 g Livio-Öl entspricht 1,1 ml, es wurden somit 34,7 ml benötigt.

Kohlenhydrate (55 %): Bei einem Brennwert von 4,1 kcal benötigt man 134,1 g Kohlenhydrate zur Deckung von 550 kcal. Im MMSP sind 47 % entsprechend 49,1 g Kohlenhydrate enthalten. Die restlichen 85 g wurden in Form von Maltodextrin (Maizena, Hamburg) zugesetzt. Maltodextrin besteht zu 94,5 % aus Glucose-Oligomeren, so daß 89,9 g davon hinzugefügt werden müssen.

Die erforderliche Kalorienmenge wurde nach der Körperoberfläche berechnet (Nomogramm nach Dubois und Dubois). Der nach Geschlecht, Alter und Körperoberfläche aus den Tabellen von Boothby et al. entnommene Grundumsatz wurde mit dem Faktor 1,7 multipliziert, der dem Arbeitsumsatz bei leichter körperlicher Arbeit, z.B. Büroarbeit, entspricht (Zöllner, 1957).

Die für die Versuchspersonen pro Tag erforderlichen Mengen der einzelnen Bestandteile wurden mit 1000 ml Wasser vermischt und auf vier Portionen verteilt.

Drei Tage nach Beginn der Diät traten bei Versuchsperson B.G. Durchfälle auf, die auf eine Unverträglichkeit des Milchzuckers im MMSP zurückgeführt wurden. Die Diät wurde daraufhin mit Hilfe des Eiweißkonzentrats Hyperprotidine^R (Nestle, Artikel Nr. 5628) hergestellt, das laktosefrei ist und zu etwa 94 % aus Eiweiß besteht. Unter dieser Diät wurden keine Durchfälle beobachtet.

Während der 1. Versuchsperiode wurde die Diät allein gegessen, während der 2. Versuchsperiode zusätzlich je 1 g AMP und GMP pro 1,73 m² Körperoberfläche. Die Nukleotide wurden als Dinatriumsalz (AMP . 6 H₂O.Na₂, GMP . H₂O.Na₂; Boehringer Mannheim) zugeführt, die eingenommenen Mengen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Als Getränke waren während der Einnahme der Formeldiät koffeinfreier Kaffee (Hag) und Mineralwasser erlaubt, Vitamine wurden in Form eines Multivitaminpräparats (Multibionta forte^R; Merck, Darmstadt) substituiert. Elektrolyte waren in ausreichender Menge sowohl im MMSP als auch in Hyperprotidine^R enthalten (Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr; DGE, 1975). Als Geschmacks-korrigentien für die Formeldiät waren bestimmte Gewürze (z.B. Zimt, Paprika, Kümmel und Curry) erlaubt. Es war nicht gestattet, während der Versuchszeit Pharmaka einzunehmen.

1. Diätphase	B.G.	K.M.
	2100 kcal	3000 kcal
Livio (ml)	74,5	104,1
MMSP (g)	-	313,5
Maltodextrin (g)	297,9	209,7
Hyperprotidine (g)	83,6	-
2. Diätphase	B.G.	K.M.
	2100 kcal	3000 kcal
Livio (ml)	74,5	104,1
MMSP (g)	-	313,5
Maltodextrin (g)	297,9	209,7
Hyperprotidine (g)	83,6	-
AMP . 6 H ₂ O Na ₂ (g)	1,26	1,47
GMP . 5 H ₂ O Na ₂ (g)	1,19	1,4

Tab. 2: Diätzusammensetzung der Versuchspersonen

3.1.3. Bestimmung der endogenen Harnsäuresynthese mittels

Doppelmarkierungstechnik - Prinzip der Methode

Als Maß für die Größe der endogenen Harnsäuresynthese diente der Einbau von Isotopen in die Harnsäure nach oraler Zufuhr einer markierten Substanz (¹⁵N-Glyzin), die bei der Purinbiosynthese als Substrat dient. Da der über den Darm ausgeschiedene Teil des Harnsäureumsatzes wegen des bakteriellen Abbaus nicht erfaßt werden kann, mußte gleichzeitig der Gesamtharnsäureumsatz nach dem Isotopenverdünnungsprinzip (¹³C-markierte Harnsäure i.v.) gemessen werden. Das Prinzip der Doppelmarkierungstechnik ist in Abb. 4 dargestellt.

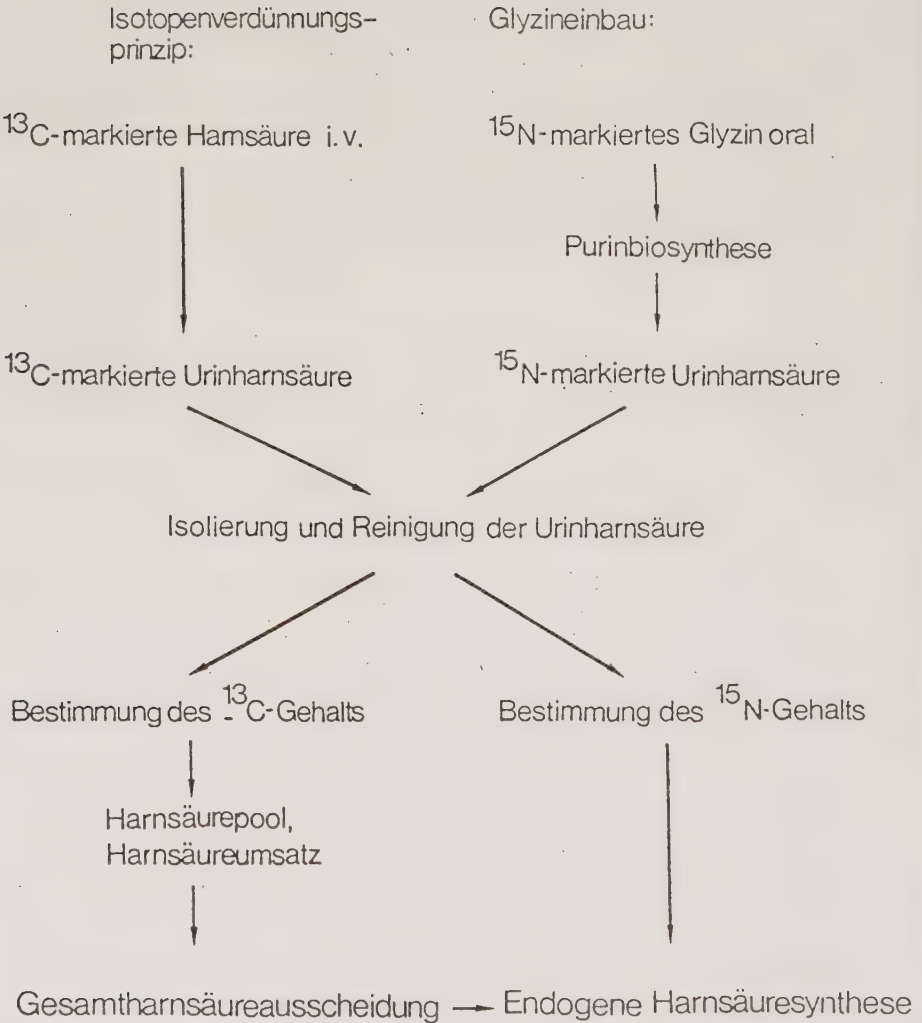


Abb. 4: Prinzip der Bestimmung der endogenen Harnsäuresynthese mittels Doppelmarkierung

3.1.4. Versuchsablauf

Die Untersuchungen unter Formeldiät wurden über 2 x 21 Tage durchgeführt. Die ersten 10 Tage dienten jeweils zur Einstellung eines Stoffwechselgleichgewichts, am Morgen des 11. Tages wurden die markierten Substanzen zugeführt, Harnsäure i.v. im Nüchternzustand, Glyzin oral mit dem anschließenden Frühstück. Die injizierten Harnsäuremengen sind in Tabelle 10 angegeben, die Glyzindosis betrug 67 mg/kg Körpergewicht entsprechend 3,5 g bei Versuchsperson B.G. und 4,1 g bei Versuchsperson K.M. Für die Versuchsperson K.M. betrug die in Form von Glyzin (Molekulargewicht 75) zugeführte Menge an Stickstoff $\frac{14}{75} \times 4,096 = 764,59$ mg N. Das verabreichte Glyzin war mit 95,1 Atom % ^{15}N angereichert. Unter Berücksichtigung der natürlichen Häufigkeit (0,365 Atom %) ergaben sich 94,735 Atom % ^{15}N -Überschuß. Das verabreichte Glyzin enthielt somit $764,59 \times 0,94735 = 724,33$ mg ^{15}N Überschuß. Bei Versuchsperson B.G. errechneten sich 619,64 mg ^{15}N Überschuß.

Während der ersten 10 Tage wurde der Urin in 24 h-Portionen, nach Zufuhr der markierten Substanzen 6 Tage lang in 12 h-Portionen, anschließend nochmals 5 Tage lang in 24 h-Portionen gesammelt. Blutentnahmen erfolgten morgens nüchtern in zweitägigem Abstand (0 bis 8 Tage) bzw. täglich (8 bis 21 Tage). Es wurden jeweils 10 ml Heparinblut entnommen, frisch zentrifugiert und das Plasma bei -20° bis zur Harnsäurebestimmung eingefroren.

Die zweite Versuchsperiode unterschied sich von der ersten durch die Nukleotidzulage zur Diät, im Übrigen waren die beiden Untersuchungen unter Formeldiät identisch. Nach den Untersuchungen unter Formeldiät wurde weiter in zunächst 3-, dann 6-, dann 10-tägigem Abstand unter Normalkost 24 h-Urin gesammelt und jeweils am Anfang und Ende der Sammelperiode Heparinblut entnommen.

Zur Bestimmung des ^{13}C - und ^{15}N -Gehalts der Urinharnsäure wurde aus den letzten beiden Sammelurinen der Vorperiode sowie aus sämtlichen Sammelurinen nach Isotopenzufuhr die Harnsäure isoliert. Die ^{13}C -Bestimmung erfolgte jeweils bis zum Ende der Formeldiät-Periode, der ^{15}N -Gehalt der Urinharnsäure wurde bis zum Abfall auf die natürliche Häufigkeit verfolgt, was nach beiden Versuchsperioden ca. 4 Monate dauerte.

3.1.5. Methoden

3.1.5.1. Harnsäurebestimmung

Die Bestimmung der renalen Harnsäureausscheidung und der Serumharnsäure wurde nach der von Zöllner (1963) modifizierten Methode von Praetorius und Poulsen (1953) durchgeführt. Das Prinzip dieser enzymatischen Bestimmung beruht auf die Einwirkung von Uricase auf Harnsäure, die dabei in Allantoin umgewandelt wird. Gleichzeitig verschwindet die typische Absorptionsbande der Harnsäure bei 293 nm. Der Extinktionsabfall ist der Harnsäurekonzentration direkt proportional.

Reagentien:

- Glyzinpuffer-Stammlösung, 0,66 M, pH 9,3 (bezogen aus der Apotheke der Poliklinik der Universität München)
Glyzinpuffer-Gebrauchslösung: hergestellt aus der Stammlösung durch Verdünnung 1 : 10 mit aqua bidest.
- Uricase, 75 U/Ampulle (Loevens Kemiske Fabrik, Ballerup, Dänemark)
Uricase-Gebrauchslösung: Uricase in 25 ml der Glyzinpuffer-Gebrauchslösung aufgelöst.
Die Eigenextinktion dieser Uricase-Gebrauchslösung liegt nach Zöllner (1963) zwischen 0,010 und 0,015.

Zur Harnsäurebestimmung im Urin wurden die Reagenzgläschen mit tiefgefrorenem Urin im Wasserbad bei 37° C aufgetaut und geschüttelt, bis eine vollständige Suspension des Niederschlags erreicht war. Danach wurden jeweils 0,2 ml Urin mit Glyzinpuffer-Gebrauchslösung auf 25 ml, also 1 : 125 verdünnt. Bei der Erarbeitung einer Eichkurve, der Herstellung der Ansätze und den photometrischen Messungen hielten wir uns an die Angaben von Zöllner (1963).

Wir stellten folgende Ansätze zur Photometrie her:

Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms (E_p):

2 ml Glyzinpuffer-Gebrauchslösung +

1 ml Uricase-Gebrauchslösung

gemessen gegen 3 ml Glyzinpuffer-Gebrauchslösung

Bestimmung des Extinktionsabfalls (E_{HS}) im Urin:

2 ml verdünnter Urin +

1 ml Glyzipuffer-Gebrauchslösung

gemessen gegen 2 ml verdünnter Urin +

1 ml Uricase-Gebrauchslösung

Alle Ergebnisse wurden als Doppelbestimmung am Spektralphotometer (Spectrophotometer Model 25, Beckman, USA) bei 293 nm (UV-Bereich) mit Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke ermittelt. Vor jeder Bestimmungsserie wurde eine Eichkurve aus einer Lösung erstellt, die aus 8 mg Harnsäure in 100 ml Puffergebrauchslösung bestand (Abb. 5).

Berechnung der Harnsäurekonzentration im Urin:

Die photometrische Messung der Extinktionsdifferenz zwischen Urinverdünnung vor der Uricaseeinwirkung gegen die Urinverdünnung nach der Uricaseeinwirkung (E_{HS}) berücksichtigt nicht, daß nur in einem Ansatz Uricase mit der Eigenextinktion E_F zugesetzt ist. Der Extinktionsdifferenz E_{HS} ist somit die Eigenextinktion E_F zuzuzählen. Die Summe ($E_F + E_{HS}$) ist proportional der Harnsäurekonzentration. Der Extinktionskoeffizient beträgt 0,0745 für 1 µg/ml in der Küvette mit 10 mm Schichtdicke. Es gilt:

$$\text{Harnsäurekonzentration} = \frac{E_F + E_{HS}}{0,0745} \quad \mu\text{g/ml}$$

Durch Aufrundung des Extinktionskoeffizienten und unter der Berücksichtigung der Urinverdünnung und der Probenmenge (2 ml in 3 ml Gesamtvolumen) ergibt sich:

$$\begin{aligned} \text{Harnsäure im Urin} &= \frac{(E_F + E_{HS}) \times 3 \times 25 \times 100}{0,075 \times 2 \times 0,2 \times 1000} \quad \text{mg/100 ml} \\ &= (E_F + E_{HS}) \times 250 \text{ mg/100 ml} \end{aligned}$$

Zur Harnsäurebestimmung im Plasma wurde eine 1 : 10 Verdünnung verwendet. Im übrigen war die Bestimmung in Urin und Plasma identisch.

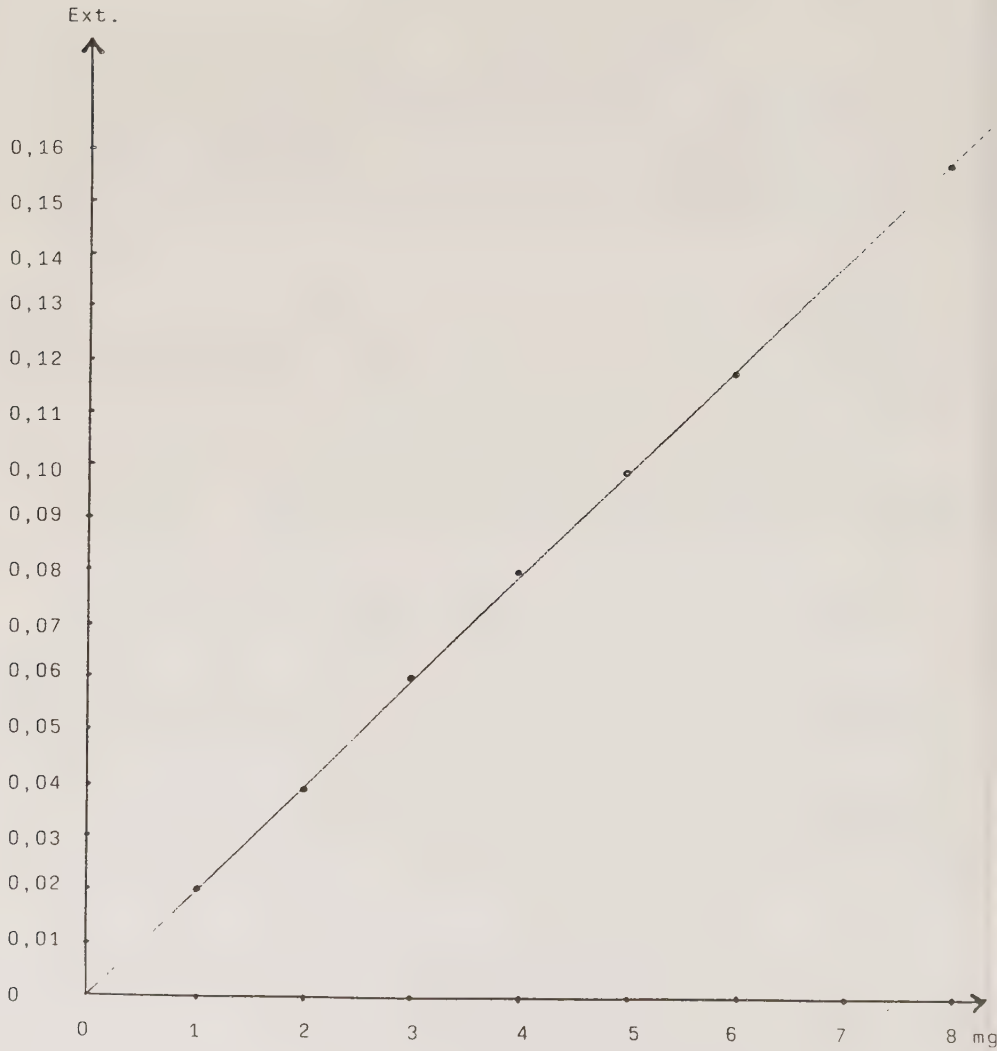


Abb. 5: Eichkurve zur Harnsäurebestimmung

3.1.5.2. Harnsäureisolierung

Zur Isolierung der Harnsäure aus dem Urin wurde die Methode von Johnson und Emerson (1972) verwendet. Dabei wurde der 12- oder 24-h-Urin mit 4 M NH_4Cl auf pH 10 mit Hilfe von Universalindikatorpapier (Merck, Darmstadt) eingestellt und 5 g Kieselgel (Merck, Darmstadt) zugefügt. Nach 15 Minuten wurden die ausgefallenen Phosphate durch Filtrieren an der Wasserstrahlpumpe entfernt. Das Filtrat wurde mit Eisessig auf pH 7,5 eingestellt und auf eine Ionenaustauschersäule (Dowex 2 x 8; Fa. Bio-Rad) aufgetragen. Die Größe der Säule betrug 40 x 2 cm, die Fließgeschwindigkeit 3 - 5 ml/min. Nach Waschen mit 800 ml Aqua dest. erfolgte die Elution der Harnsäure mit 1000 ml 0,5 M Pyridin-Formiatlösung pH 4,0 (0,5 Mol Pyridin, 0,5 Mol Ameisensäure, Aqua dest. ad. 1000 ml, pH-Einstellung mit konzentrierter Ameisensäure). Dem Eluat wurden 10 ml 5-%ige Natriumsulfit-Hydrazinhydratlösung zugesetzt, um die Oxydation der Harnsäure zu verhindern. Anschließend erfolgte die Einengung im Rotationsverdampfer auf ca. 5 ml. Dieses Konzentrat wurde dann mit ca. 40 ml Aqua dest. versetzt und auf 4° C gekühlt. Die Harnsäure fiel dabei spontan oder unter Rühren kristallin aus.

Die Kristalle wurden nun in einem Glasfiltertigel unter Vakuum abgesaugt und in 30 - 40 ml 0,8-%igem Li_2CO_3 gelöst. Die mit Aktivkohle (Merck, Darmstadt) versetzte Lösung wurde filtriert, die Harnsäure dann aus dem Filtrat mit 2 n Essigsäure bei 4° - 10° ausgefällt. Der Überstand wurde abfiltriert und das Präzipitat mit Aqua dest. gewaschen. Dieser Reinigungsvorgang wurde einmal wiederholt.

Zur Reinheitsbestimmung wurde eine Lösung photometriert, die die isolierte und getrocknete Harnsäure in einer Konzentration von 1 mg/ml enthielt. Die Extinktion betrug 0,074, der theoretisch zu erwartende Wert 0,0745.

Regeneration des Ionenaustauschers:

Ionenaustauscherharz (Dowex 2 x 8; Fa. Bio-Rad) wurde mit 1 n NaOH vermischt und gerührt, danach stehengelassen und anschließend de-

kantiert. Nach mehrmaligem Waschen wurde der Ionenaustauscher mit 1 n Essigsäure versetzt, gerührt und dekantiert. Anschließend wurde nochmals mit destilliertem Wasser gewaschen, bis ein pH von 4,0 erreicht war. Der gebrauchsfertige Ionenaustauscher wurde dann in die Ionenaustauschersäule gefüllt.

3.1.5.3. Harnsäureaufschluß zur massenspektrometrischen ¹⁵N- und ¹³C-Bestimmung

Zur ¹⁵N-Bestimmung wurde die Harnsäure nach einem abgewandelten Kjeldahl-Verfahren aufgeschlossen (Abb. 6). Dazu wurden zu 2 - 3 mg Harnsäure 400 µl konz. H₂SO₄ (Schwefelsäure zur Stickstoffbestimmung; Merck, Darmstadt) und eine Spatelspitze Selenoxydationsgemisch nach Wiener (Merck, Darmstadt) gegeben. Die Reagenzgläser mit diesem Gemisch wurden im Metallblock 8 h bei 350° C am Rückflußkühler gekocht. Nachdem die Reagenzgläser abgekühlt waren, wurden 5 µl Bromkresolgrün (0,1-%ig; Merck, Darmstadt) zugesetzt und die Lösung auf Eis bis zum Umschlag des Indikators mit 10 n NaOH alkalisiert. Danach wurde das Glas sofort mit einem Gummistopfen, der ein kleines Einhängengefäß mit 200 µl HCl 0,4 n und 5 µl Bromkresolgrün enthielt, verschlossen und 12 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Dabei diffundiert das entstehende NH₃ in die HCl-Lösung, und es bildete sich NH₄Cl. Nach Überführen in ein 1,5 ml fassendes Plastikgefäß (Eppendorf, Hamburg) wurde die Lösung im Trockenschrank bei ca. 80° C eingedampft. Zur massenspektrometrischen Bestimmung des ¹⁵N-Gehalts wurde dieses Gefäß mittels Gummiringen vakuumdicht mit dem Massenspektrometer verbunden, das System evakuiert und durch Hypobromidoxydation molekularer Stickstoff freigesetzt.

Zur Bestimmung des ¹³C-Gehalts wurde die gereinigte Harnsäure in einem mit dem Massenspektrometer gekoppelten Elementaranalysegerät im Helium-Sauerstoffstrom bei 800° C aufgeschlossen, H₂O in einem Absorptionsrohr an P₄O₁₀/Bimsstein gebunden und CO₂ in einer Kühlfalle mit flüssigem Stickstoff kondensiert. Nach Evakuierung des Systems wurde CO₂ ins Massenspektrometer expandiert (Winkler und Schmidt, 1980)*.

*Für die massenspektrometrischen Messungen habe ich Herrn Dr. R. Medina, Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie der Technischen Universität München, Freising-Weihenstephan, zu danken.

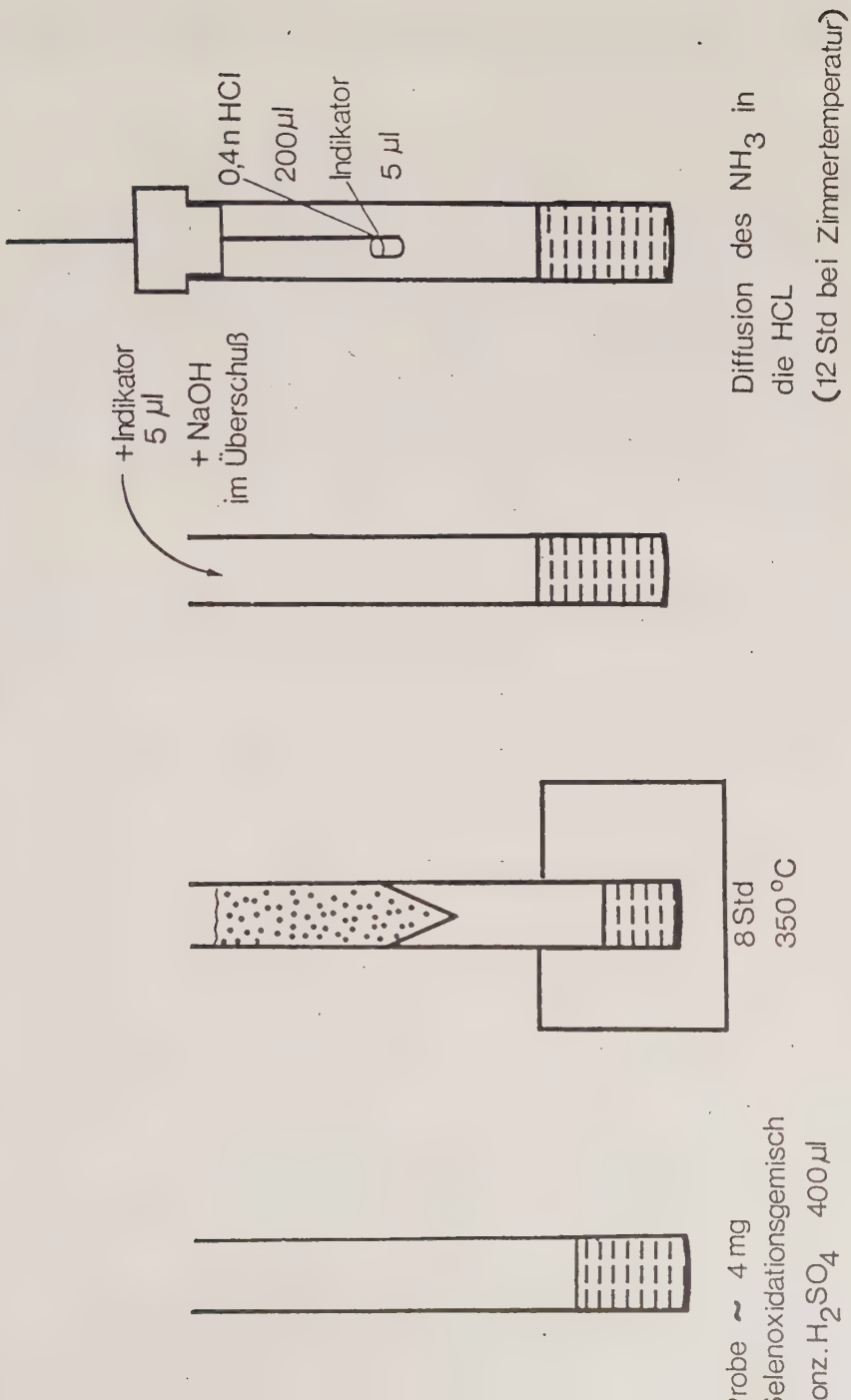


Abb. 6: Darstellung des Harnsäureaufschlusses im Metallblock

3.1.5.4. Berechnung von Poolgröße, Umsatz und endogener Synthese der Harnsäure

Poolgröße und Umsatzrate wurden nach dem Isotopenverdünnungsprinzip mittels ^{13}C -markierter Harnsäure bestimmt (Benedict et al., 1949). Die i.v. injizierte markierte Harnsäure vermischt sich mit der im Pool vorhandenen Harnsäure. Durch den Zufluß nicht markierter Harnsäure nimmt der Isotopengehalt des Pools ständig ab. Man mißt nun den Isotopengehalt der Urinharnsäure, die die gleiche Isotopenkonzentration wie der Pool besitzt, und kann den Konzentrationsabfall zeichnerisch darstellen. Wählt man die Versuchsbedingungen so, daß Poolgröße und Umsatzrate konstant sind, ergibt die Auftragung des natürlichen Logarithmus der Isotopenkonzentration der Urinharnsäure gegen die Zeit eine Gerade mit der Steigung

$$k = - \frac{\ln I_1 - \ln I_2}{t_2 - t_1}$$

Durch Rückwärtsextrapolation auf t_0 kann die anfängliche Isotopenkonzentration I_0 im Pool bestimmt werden.

Wird $\ln I_0$ für $\ln I_1$ und die Konzentration 1 für I_2 ($\ln 1 = 0$) gesetzt, so erhält man als einfachste Form der Gleichung

$$k = - \frac{\ln I_0}{t}$$

wobei t diejenige Zeit ist, zu der die Gerade die x-Achse schneidet.

Ist die Isotopenkonzentration im Pool zu einer beliebigen Zeit t

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kt}$$

so ist

$$\ln I_t = \ln I_0 - kt.$$

Setzt man wieder für I_t die Konzentration 1 ein, so erhält man

$$k = \frac{\ln I_0}{t}$$

Die Größe k mit der Einheit Tage^{-1} gibt also an, um welchen Teil

sich die Isotopenkonzentration im Pool pro Zeiteinheit ändert, d.h. k ist ein Maß für die Ganzkörperclearance der Harnsäure.

Die Poolgröße wird nach dem Verdünnungsprinzip berechnet:

$$a \times I_i = (A + a) \times I_0$$

a = injizierte Harnsäuremenge

I_i = Isotopenkonzentration der injizierten Harnsäure

A = Harnsäurepool

I_0 = Isotopenkonzentration der Harnsäure im Pool unmittelbar nach vollständiger Durchmischung mit der injizierten Harnsäure.

Der Harnsäurepool hat demnach die Größe

$$A = a \left(\frac{I_i}{I_0} - 1 \right)$$

Das Produkt aus A (mg) und k (Tage⁻¹) gibt dann den Harnsäureumsatz als Menge pro Zeit an:

$$\text{Harnsäureumsatz (mg/Tag)} = A \times k$$

Die endogene Synthese wurde mit Hilfe des Einbaus von ¹⁵N-Glyzin in die Harnsäure bestimmt. Wird der nach dem Isotopenverdünnungsprinzip ermittelte Harnsäureumsatz mit der ¹⁵N-Konzentration der Harnsäure multipliziert, so erhält man die in Form von Harnsäure ausgeschiedene Isotopenmenge.

Prinzipiell können bei Isotopeneinbaustudien Rückschlüsse sowohl aus der erreichten Isotopenkonzentration als auch aus der kumulativen Ausscheidung gezogen werden. Wegen der Verdünnung durch exogene Harnsäure war in unserem Fall die ¹⁵N-Konzentration der Harnsäure allein nicht verwertbar.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Harnsäurewerte

Die Ergebnisse der Harnsäurebestimmungen sind in den Tabellen 3, 4, 5 und 6 aufgeführt. Unter purinfreier Diät (Tab. 3) betrugen die Mittelwerte der Urinharnsäure bei der Versuchsperson B.G. 260 mg/Tag, bei der Versuchsperson K.M. 352 mg/Tag. Die Mittelwerte der Plasmaharnsäure lagen bei der Versuchsperson B.G. bei 3,5 mg/100 ml und bei der Versuchsperson K.M. bei 3,8 mg/100 ml. Ein eindeutiger Abfall war im Vergleich zum Mittelwert unter Normalkost (6,0 mg/100 ml bzw. 7,0 mg/100 ml) ersichtlich.

Unter Nukleotidzulage stiegen sowohl die Urinharnsäurewerte als auch die Plasmaharnsäurewerte an. Der Urinharnsäuremittelwert der Versuchsperson B.G. betrug 666 mg/Tag, der Versuchsperson K.M. 927 mg/Tag. Im Plasma wurden bei der Versuchsperson B.G. 5,9 mg/100 ml, bei der Versuchsperson K.M. 6,5 mg/100 ml gemessen.

Zu erwähnen sind auch die Werte unter Normalkost während der Zwischenperiode und der Nachperiode. Der Urinharnsäuremittelwert der Versuchsperson B.G. war 571 mg/Tag bzw. 488 mg/Tag, bei Versuchsperson K.M. 670 mg/Tag bzw. 594 mg/Tag. Im Plasma wurden bei der Versuchsperson B.G. 3,6 bzw. 4,5, bei Versuchsperson K.M. 5,5 bzw. 5,8 mg/100 ml gemessen.

Datum Versuchsperson	Renale Harnsäureausscheidung				Plasmaharnsäure	
	B.G.		K.M.		B.G.	K.M.
	mg/12h	mg/24h	mg/12h	mg/24h	mg/100 ml	mg/100 ml
11.02.81		381		532	3,8	4,9
12.02.81		295		376		
13.02.81		189		319	3,7	3,6
14.02.81		213		325		
15.02.81		313		315	3,9	3,6
16.02.81		255		352		
17.02.81		245		334	3,0	3,7
18.02.81		228		315		
19.02.81		263		336	2,9	3,2
20.02.81		217		319	2,8	2,6
21.02.81 Tag	198		278		3,2	3,3 vor Inj.
					4,9	3,8 nach Inj.
Nacht	101	299	150	428	4,2	3,0
22.02.81 Tag	188		191		4,2	3,3
Nacht	126	314	135	326		
23.02.81 Tag	150		216		3,2	3,1
Nacht	85	235	123	339		
24.02.81 Tag	149		224		3,4	3,4
Nacht	214	363	122	345		
25.02.81 Tag	121		214		3,3	2,7
Nacht	73	194	138	352		
26.02.81 Tag	161		210		3,6	2,7
Nacht	94	255	140	349		
27.02.81		227		314		
28.02.81		233		321	3,5	3,4
01.03.81		222		312		
02.03.81		224		311	3,4	3,3
03.03.81		254		314		
04.03.81					3,4	3,6

Tab. 3: Harnsäurewerte der Urine und Plasmen während der ersten Diätperiode (purinfrei)

Datum Versuchspersonen	Renale Harnsäureausscheidung		Plasmaharnsäure	
	B.G.	K.M.	B.G.	K.M.
	mg/24h	mg/24h	mg/100 ml	mg/100 ml
06.03.81 Anfang			3,6	4,1
07.03.81 Ende	621	690	4,2	5,6
15.03.81 Anfang			3,6	5,7
16.03.81 Ende	468	779	3,8	5,4
17.03.81 Anfang			4,0	5,5
18.03.81 Ende	525	597	3,7	5,2
20.03.81 Anfang			2,6	5,8
21.03.81 Ende	440	598	2,8	5,3
27.03.81 Anfang			3,5	5,7
28.03.81 Ende	679	848	3,3	5,5
03.04.81 Anfang			3,1	5,7
04.04.81 Ende	423	660	3,9	5,8
14.04.81 Anfang			4,2	6,0
15.04.81 Ende	761	574	4,5	5,7
28.04.81 Anfang			4,1	5,2
29.04.81 Ende	651	614	3,4	5,5

Tab. 4: Harnsäurewerte der Urine und Plasmen während der Zwischenperiode (unter Normalkost)

Datum Versuchspersonen	Renale Harnsäureausscheidung				Plasmaharnsäure	
	B.G.		K.M.		B.G.	K.M.
	mg/12h	mg/24h	mg/12h	mg/24h	mg/100 ml	mg/100 ml
06.05.81		505		786	4,9	5,2
07.05.81		568		880		
08.05.81		1054		969	6,1	6,6
09.05.81		1102		887		
10.05.81		628		879	6,0	6,8
11.05.81		398		985		
12.05.81		482		964	7,0	6,7
13.05.81		983		925		
14.05.81		566		1007	5,6	7,3
15.05.81		370		986	5,9	6,8
16.05.81 Tag	719		667		6,5	6,9 vor Inj.
					6,5	7,9 nach Inj
Nacht	518	1237	350	1017	8,1	7,6
17.05.81 Tag	560		587		7,4	7,2
Nacht	219	779	300	886		
18.05.81 Tag	186		592		6,4	7,3
Nacht	218	404	370	962		
19.05.81 Tag	421		614		7,3	7,4
Nacht	594	1015	323	936		
20.05.81 Tag	670		599		8,2	6,9
Nacht	329	999	374	973		
21.05.81 Tag	355		625		7,1	7,1
Nacht	441	796	372	997		
22.05.81		1482		995		
23.05.81		528		1056	4,5	6,6
24.05.81		1198		977		
25.05.81		1019		980	6,4	7,5
26.05.81		1374		897		
27.05.81					6,1	6,8

Tab. 5: Harnsäurewerte der Urine und Plasmen während der zweiten Diätperiode (purinreich)

Datum Versuchspersonen	Renale Harnsäureausscheidung		Plasmaharnsäure	
	B.G.	K.M.	B.G.	K.M.
	mg/24h	mg/24h	mg/100 ml	mg/100 ml
01.06.81 Anfang			4,0	5,7
02.06.81 Ende	685	693	4,9	5,0
04.06.81 Anfang			4,1	5,6
05.06.81 Ende	461	628	3,9	5,4
08.06.81 Anfang			3,9	6,0
09.06.81 Ende	287	570	4,1	6,4
11.06.81 Anfang			4,1	5,8
12.06.81 Ende	700	677	4,2	5,5
22.06.81 Anfang			4,2	5,8
23.06.81 Ende	415	599	4,8	6,0
02.07.81 Anfang			5,0	5,4
03.07.81 Ende	486	482	5,1	5,5
16.07.81 Anfang			5,2	6,0
17.07.81 Ende	466	620	4,7	6,7
30.07.81 Anfang			4,6	5,7
31.07.81 Ende	407	485	4,6	6,1

Tab. 6: Harnsäurewerte der Urine und Plasmen während der Nachperiode (unter Normalkost)

3.2.2. Poolgröße und Umsatz der Harnsäure

In den Tabellen 7, 8, 9 und 10 sind die Werte des ^{13}C -Gehalts der Urinharnsäure bei den Versuchspersonen unter purinfreier und purinreicher Diät aufgeführt. Die Abbildungen 7 und 8 zeigen die halblogarithmische Auftragung der ^{13}C -Konzentrationen der Urinharnsäure.

Die aus den Isotopenwerten berechneten Daten sind in Tabelle 11 zusammengefaßt.

Der Harnsäurepool war bei der Versuchsperson B.G. unter purinfreier Diät 805 mg, unter Purinzulage 1477 mg, bei der Versuchsperson K.M. 732 mg bzw. 2116 mg. Der Umsatz wurde bei der Versuchsperson B.G. unter purinfreier Diät zu 419 mg/Tag, unter Purinzulage zu 1182 mg/Tag, bei der Versuchsperson K.M. zu 461 mg/Tag bzw. 1862 mg/Tag berechnet.

Datum	Isotopengehalt der Probe	Atomprozent Überschuß	ln Atomprozent Überschuß
18.02.81	1,0846	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 1,0854	
19.02.81	1,0862		
21.02.81 Tag	2,8419	1,7565	0,56332
Nacht	2,6932	1,6078	0,47487
22.02.81 Tag	2,3008	1,2154	0,19507
Nacht	2,0153	0,9299	-0,07268
23.02.81 Tag	1,8106	0,7252	-0,32131
Nacht	1,6675	0,5821	-0,54111
24.02.81 Tag	1,3587	0,2733	-1,29718
Nacht	1,4101	0,3247	-1,12485
25.02.81 Tag	1,4180	0,3326	-1,10081
Nacht	1,2800	0,1946	-1,63681
26.02.81 Tag	1,2252	0,1398	-1,96754
Nacht	1,1901	0,1047	-2,25665
27.02.81	1,1625	0,0771	-2,56265
28.02.81	1,1382	0,0528	-2,94124
01.03.81	1,1151	0,0297	-3,51661
02.03.81	1,1052	0,0198	-3,92207
03.03.81	1,0946	0,0092	-4,68855

Tab. 7: ^{13}C -Gehalt der Urinharnsäure.
Versuchsperson B.G., purinfreie Diät

Datum	Isotopengehalt der Probe	Atomprozent Überschuß	ln Atomprozent Überschuß
13.05.81	1,0880	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 1,0878	
14.05.81	1,0875		
16.05.81 Tag	2,1574	1,0696	0,06728
Nacht	1,5391	0,4513	-0,79562
17.05.81 Tag	1,5689	0,4811	-0,73168
Nacht	1,3702	0,2842	-1,25808
18.05.81 Tag	1,2605	0,1727	-1,75619
Nacht	1,2404	0,1526	-1,87994
19.05.81 Tag	1,1795	0,0917	-2,38923
Nacht	1,4390	0,3512	-1,04640
20.05.81 Tag	1,1276	0,0398	-3,22388
Nacht	1,1161	0,0283	-3,56489
21.05.81 Tag	1,1106	0,0228	-3,78099
Nacht	1,1008	0,0130	-4,34281
22.05.81	1,0320	0	

Tab. 8: ^{13}C -Gehalt der Urinharnsäure.
Versuchsperson B.G., Nukleotidzulage

Datum	Isotopengehalt der Probe	Atomprozent Überschuß	In Atomprozent Überschuß
18.02.81	1,0752	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 1,0772	
19.02.81	1,0792		
21.02.81 Tag	2,9869	1,9097	0,64694
Nacht	2,7683	1,6911	0,52538
22.02.81 Tag	2,4091	1,3319	0,28661
Nacht	2,0413	0,9641	-0,03656
23.02.81 Tag	1,7328	0,6556	-0,42220
Nacht	1,5286	0,4514	-0,79540
24.02.81 Tag	1,5608	0,4836	-0,72649
Nacht	1,3455	0,2683	-1,31565
25.02.81 Tag	1,2526	0,1754	-1,74068
Nacht	1,2084	0,1312	-2,03103
26.02.81 Tag	1,1733	0,0961	-2,34236
Nacht	1,1558	0,0786	-2,54338
27.02.81	1,1285	0,0513	-2,97006
28.02.81	1,1092	0,0320	-3,44202
01.03.81	1,0972	0,0200	-3,91202
02.03.81	1,0872	0,0100	-4,60517
03.03.81	1,0760	0	

Tab. 9: ^{13}C -Gehalt der Urinharnsäure.

Versuchsperson K.M., purinfreie Diät

Datum	Isotopengehalt der Probe	Atomprozent Überschuß	In Atomprozent Überschuß
13.05.81	1,090	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 1,090	
14.05.81	1,089		
16.05.81 Tag	1,900	0,810	-0,21072
Nacht	1,418	0,328	-1,11474
17.05.81 Tag	1,299	0,209	-1,56542
Nacht	1,316	0,226	-1,48722
18.05.81 Tag	1,234	0,144	-1,93794
Nacht	1,227	0,137	-1,98777
19.05.81 Tag	1,169	0,079	-2,53831
Nacht	1,142	0,052	-2,95651
20.05.81 Tag	1,115	0,025	-3,68888
Nacht	1,106	0,016	-4,13516
21.05.81 Tag	1,095	0,005	-5,29832
Nacht	1,090	0	

Tab. 10: ^{13}C -Gehalt der Urinharnsäure.
Versuchsperson K.M., Nukleotidzulage

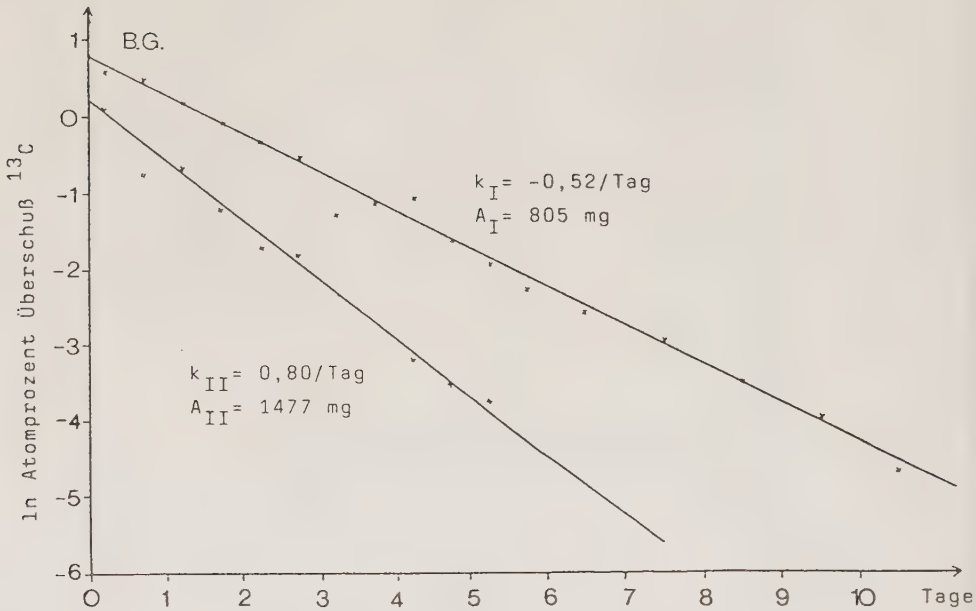


Abb. 7: Halblogarithmische Darstellung der Isotopenkonzentration der Urinharns\u00e4ure der Versuchsperson B.G. nach Injektion ^{13}C -markierter Harns\u00e4ure. k_I Umsatzrate unter purinfreier Di\u00e4t, k_{II} unter purinreicher Di\u00e4t

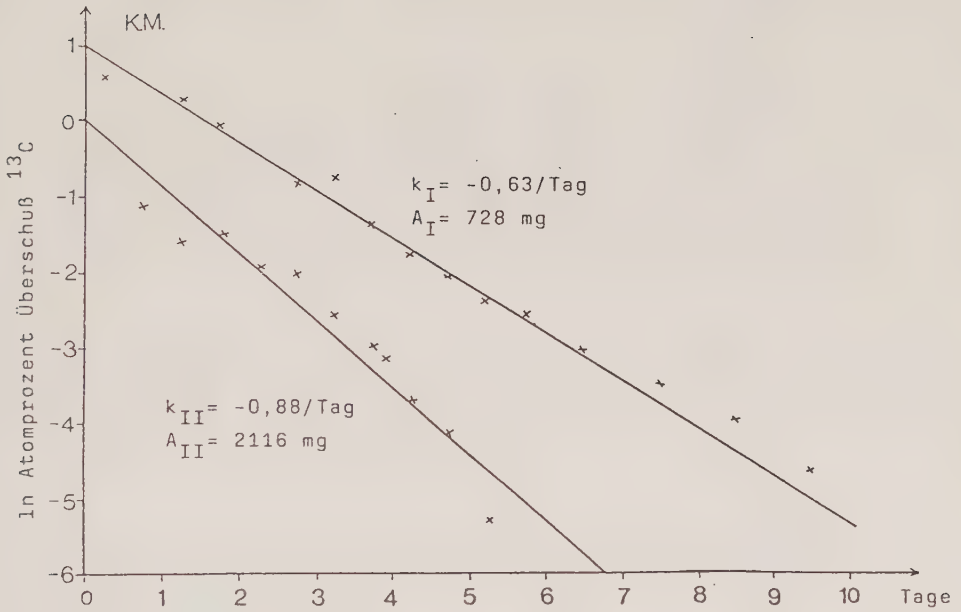


Abb. 8: Halblogarithmische Darstellung der Isotopenkonzentration der Urinharnsäure der Versuchsperson K.M. nach Injektion ^{13}C -markierter Harnsäure. k_I Umsatzrate unter purinfreier Diät, k_{II} unter purinreicher Diät

Versuchs- personen	injizierte Harnsäure (mg)	^{13}C -Atom% Über- schuß der inji- zierten Harnsäure- re. I_i	^{13}C -Atom% Über- schuß zur Zeit $t = 0$ I_0	Umsatzrate $k \left(\frac{1}{\text{Tag}} \right)$	Pool A (mg)	Umsatz A x k (mg/Tag)	renale HS-Ausscheidung $U \times V$ (mg/Tag)	$\frac{U \times V}{A \times k} \times 100$ (%)	enterale HS- ausscheidung (mg)	enterale HS- ausscheidung (%)
-----------------------	---------------------------------	--	--	---	-------------------	-----------------------------	--	---	--------------------------------------	-------------------------------------

Versuch I

B.G.	108,7	18,89	2,25	0,52	805	419	242	58	177	42
K.M.	125,8	18,89	2,77	0,63	732	461	328	71	133	29

Versuch II

B.G.	106,6	18,89	1,27	0,80	1477	1182	850	72	332	28
K.M.	118,3	18,89	1,00	0,88	2116	1862	971	52	891	48

Tab. 11: Poolgröße und Umsatz der Harnsäure. Zusammenfassung der nach dem Isotopenverdünnungsprinzip ermittelten Werte.

3.2.3. Endogene Harnsäuresynthese

Die Versuchsperson K.M. schied in der 1. Diätphase im Mittel 0,1024 mg ^{15}N pro Tag als Urin-Harnsäure aus. Nach den Bestimmungen von Pool und Umsatz waren dies 71 % der Gesamtausscheidung. Die ^{15}N -Gesamtausscheidung als Harnsäure betrug somit $0,1024 \times \frac{100}{71} = 0,1441 \text{ mg/Tag}$. Über 11 Tage summiert entsprach dies $\frac{0,1442 \times 11}{724,33} = 0,219 \%$ des in Form von Glyzin verabreichten ^{15}N .

In der 2. Diätphase ergab sich für dieselbe Versuchsperson im Mittel eine ^{15}N -Ausscheidung als Urin-Harnsäure von 0,0878 mg/Tag. Die Gesamtausscheidung betrug $0,0878 \times \frac{100}{52} = 0,1688 \text{ mg/Tag}$ im Mittel. Dies entsprach 0,256 % der zugeführten Dosis in 11 Tagen. Die Einzelwerte der Versuchsperson K.M. sind in den Tabellen 14, 15, 18 und 19 aufgeführt und in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

Bei der Versuchsperson B.G. betrug in der 1. Diätphase die mittlere tägliche renale ^{15}N -Ausscheidung 0,0956 mg/Tag. Dies entsprach einer Gesamtausscheidung von $0,0956 \times \frac{100}{58} = 0,1648 \text{ mg/Tag}$ bzw. $\frac{0,1648 \times 11}{619,64} = 0,293 \%$ der zugeführten Dosis in 11 Tagen.

In der 2. Diätphase schied die Versuchsperson B.G. im Mittel 0,1120 mg ^{15}N /Tag als Urin-Harnsäure aus. Daraus errechnete sich eine Gesamtausscheidung von durchschnittlich $0,1120 \times \frac{100}{72} = 0,1556 \text{ mg/Tag}$. In 11 Tagen entsprach dies 0,276 % der zugeführten Dosis. Die Werte der Versuchsperson B.G. sind in den Tabellen 12, 13, 16 und 17 aufgeführt und in Abbildung 9 graphisch dargestellt.

Datum	¹⁵ N-Gehalt der Probe	Atomprozent Überschuß ¹⁵ N	renale Harnsäure- ausscheidung (mg/Tag)	Stickstoff- ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)	¹⁵ N-Ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)
18.02.81	0,362	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 0,361			
19.02.81	0,360				
21.02.81	0,389	0,028	198	65,94	0,0182
Nacht	0,460	0,099	101	33,77	0,0333
22.02.81	0,490	0,129	188	62,75	0,0811
Nacht	0,502	0,141	126	42,08	0,0593
23.02.81	0,511	0,150	150	49,92	0,0750
Nacht	0,524	0,163	85	28,45	0,0462
24.02.81	0,462	0,101	149	49,66	0,0503
Nacht	0,520	0,158	214	71,48	0,1132
25.02.81	0,495	0,133	121	40,40	0,0539
Nacht	0,558	0,197	73	24,25	0,0478
26.02.81	0,520	0,159	161	53,66	0,0851
Nacht	0,478	0,117	94	31,21	0,0365
27.02.81	0,525	0,164	227	75,67	0,1241
28.02.81	0,373	0,012	233	77,52	0,0092
01.03.81	0,499	0,137	222	74,09	0,1017
02.03.81	0,478	0,117	224	74,75	0,0872
03.03.81	0,396	0,035	254	84,56	0,0295

Tab. 12: ¹⁵N-Gehalt der Urinharnsäure unter purinfreier Diät. Versuchsperson B.G.

Datum	¹⁵ N-Gehalt der Probe	Atomprozent ¹⁵ N Überschuß	renale Harnsäure- ausscheidung (mg/Tag)	Stickstoff- ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)	¹⁵ N-Ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)
13.05.81	0,364	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 0,364			
14.05.81	0,364				
16.05.81	0,381	0,017	719	239,60	0,0400
	0,393	0,029	518	172,70	0,0494
17.05.81	0,400	0,036	560	186,81	0,0663
	0,400	0,036	219	72,82	0,0259
18.05.81	0,411	0,047	186	61,95	0,0292
	0,410	0,046	218	72,75	0,0335
19.05.81	0,404	0,040	421	140,47	0,0558
	0,406	0,042	594	198,05	0,0834
20.05.81	0,401	0,037	670	223,15	0,0819
	0,402	0,038	329	109,58	0,0420
21.05.81	0,403	0,039	355	118,46	0,0460
	0,398	0,034	441	146,90	0,0504
22.05.81	0,398	0,034	1482	494,13	0,1680
23.05.81	0,398	0,034	528	176,04	0,0599
24.05.81	0,397	0,033	1198	399,41	0,1314
25.05.81	0,396	0,032	1019	339,80	0,1081
26.05.81	0,399	0,035	1374	458,05	0,1612

- 39 -

Tab. 13: ¹⁵N-Gehalt der Urinharnsäure unter purinreicher Diät. Versuchsperson B.G.

Datum	¹⁵ N-Gehalt der Probe	Atomprozent ¹⁵ N Überschuß	renale Harnsäure- ausscheidung (mg/Tag)	Stickstoff- ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)	¹⁵ N-Ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)
18.02.81	0,359	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 0,362			
19.02.81	0,364				
21.02.81	0,393	0,031	278	92,53	0,0291
	0,464	0,103	150	50,07	0,0516
22.02.81	0,432	0,070	191	63,57	0,0447
	0,461	0,100	135	45,07	0,0449
23.02.81	0,430	0,068	216	71,97	0,0492
	0,464	0,103	123	41,07	0,0422
24.02.81	0,519	0,158	224	74,50	0,1177
	0,365	0,003	122	40,60	0,0014
25.02.81	0,461	0,100	214	71,37	0,0714
	0,463	0,102	138	45,93	0,0468
26.02.81	0,435	0,074	210	69,87	0,0514
	0,465	0,103	140	46,63	0,0482
27.02.81	0,462	0,100	314	104,53	0,1049
28.02.81	0,464	0,102	321	106,97	0,1095
01.03.81	0,464	0,103	312	103,83	0,1064
02.03.81	0,459	0,098	311	103,63	0,1012
03.03.81	0,463	0,101	314	104,63	0,1061

Tab. 14: ¹⁵N-Gehalt der Urinharnsäure unter purinfreier Diät. Versuchsperson K.M.

Datum	¹⁵ N-Gehalt der Probe	Atomprozent ¹⁵ N Überschuß	renale Harnsäure- ausscheidung (mg/Tag)	Stickstoff- ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)	¹⁵ N-Ausscheidung als Harnsäure (mg/Tag)
13.05.81	0,363	Mittelwert der natürlichen Häufigkeit = 0,365			
14.05.81	0,366				
16.05.81	Tag Nacht	0,376 0,381	667 350	222,47 116,63	0,0245 0,0187
17.05.81	Tag Nacht	0,388 0,391	587 300	195,57 99,87	0,0450 0,0260
18.05.81	Tag Nacht	0,397 0,395	592 370	197,40 123,23	0,0632 0,0370
19.05.81	Tag Nacht	0,395 0,397	614 323	204,50 107,63	0,0614 0,0344
20.05.81	Tag Nacht	0,397 0,396	599 374	199,73 124,63	0,0639 0,0386
21.05.81	Tag Nacht	0,396 0,396	625 372	208,23 124,03	0,0646 0,0385
22.05.81		0,395	995	331,60	0,0995
23.05.81		0,390	1056	351,87	0,0878
24.05.81		0,390	977	325,57	0,0878
25.05.81		0,392	980	326,63	0,0882
26.05.81		0,394	897	299,07	0,0867

Tab. 15: ¹⁵N-Gehalt der Urinharnsäure unter purinreicher Diät. Versuchsperson K.M.

Datum		% der zugeführten Dosis		
		mg/12h	Einzelwerte	kumulative Ausscheidung
21.02.81	Tag	0,0182	0,003	
	Nacht	0,0333	0,005	0,008
22.02.81	Tag	0,0811	0,013	0,021
	Nacht	0,0593	0,010	0,031
23.02.81	Tag	0,0750	0,012	0,043
	Nacht	0,0462	0,007	0,050
24.02.81	Tag	0,0503	0,008	0,058
	Nacht	0,1132	0,018	0,076
25.02.81	Tag	0,0539	0,009	0,085
	Nacht	0,0478	0,008	0,093
26.02.81	Tag	0,0851	0,014	0,107
	Nacht	0,0365	0,006	0,113
		mg/24h		
27.02.81		0,1241	0,020	0,133
28.02.81		0,0092	0,002	0,135
01.03.81		0,1017	0,016	0,151
02.03.81		0,0872	0,014	0,165
03.03.81		0,0295	0,005	0,170

Tab. 16: Renale ¹⁵N-Ausscheidung als Harnsäure aus oral zugeführtem Glyzin unter purinfreier Diät. Versuchsperson B.G.

Datum		mg/12h	% der zugeführten Dosis	
			Einzelwerte	kumulative Ausscheidung
16.05.81	Tag	0,0400	0,006	
	Nacht	0,0494	0,008	0,014
17.05.81	Tag	0,0663	0,011	0,025
	Nacht	0,0259	0,004	0,029
18.05.81	Tag	0,0292	0,005	0,034
	Nacht	0,0335	0,005	0,039
19.05.81	Tag	0,0558	0,009	0,048
	Nacht	0,0834	0,013	0,061
20.05.81	Tag	0,0819	0,013	0,074
	Nacht	0,0420	0,007	0,081
21.05.81	Tag	0,0460	0,007	0,088
	Nacht	0,0504	0,008	0,096
		mg/24h		
22.05.81		0,1680	0,027	0,123
23.05.81		0,0599	0,010	0,133
24.05.81		0,1314	0,021	0,154
25.05.81		0,1081	0,017	0,171
26.05.81		0,1612	0,026	0,197

Tab. 17: Renale ¹⁵N-Ausscheidung als Harnsäure aus oral zugeführtem Glyzin unter purinreicher Diät. Versuchsperson B.G.

Datum		mg/12h	% der zugeführten Dosis	
			Einzelwerte	kumulative Ausscheidung
21.02.81	Tag	0,0291	0,004	
	Nacht	0,0516	0,007	0,011
22.02.81	Tag	0,0447	0,006	0,017
	Nacht	0,0449	0,006	0,023
23.02.81	Tag	0,0492	0,007	0,030
	Nacht	0,0422	0,006	0,036
24.02.81	Tag	0,1177	0,016	0,052
	Nacht	0,0014	0	0,052
25.02.81	Tag	0,0714	0,010	0,062
	Nacht	0,0468	0,006	0,068
26.02.81	Tag	0,0514	0,007	0,075
	Nacht	0,0482	0,007	0,082
		mg/24h		
27.02.81		0,01049	0,014	0,096
28.02.81		0,1095	0,015	0,111
01.03.81		0,1064	0,015	0,126
02.03.81		0,1012	0,014	0,140
03.03.81		0,1061	0,015	0,155

Tab. 18: Renale ¹⁵N-Ausscheidung als Harnsäure aus oral zugeführtem Glyzin unter purinfreier Diät. Versuchsperson K.M.

Datum	% der zugeführten Dosis		
	mg/12h	Einzelwerte	kumulative Ausscheidung
16.05.81 Tag	0,0245	0,003	
Nacht	0,0187	0,003	0,006
17.05.81 Tag	0,0450	0,006	0,012
Nacht	0,0260	0,004	0,016
18.05.81 Tag	0,0632	0,009	0,025
Nacht	0,0370	0,005	0,030
19.05.81 Tag	0,0614	0,009	0,039
Nacht	0,0344	0,005	0,044
20.05.81 Tag	0,0639	0,009	0,053
Nacht	0,0386	0,005	0,058
21.05.81 Tag	0,0646	0,009	0,067
Nacht	0,0385	0,005	0,072
	mg/24h		
22.05.81	0,0995	0,014	0,086
23.05.81	0,0878	0,012	0,098
24.05.81	0,0878	0,012	0,110
25.05.81	0,0882	0,012	0,122
26.05.81	0,0867	0,012	0,134

Tab. 19: Renale ¹⁵N-Ausscheidung als Harnsäure aus oral zugeführtem Glyzin unter purinreicher Diät. Versuchsperson K.M.

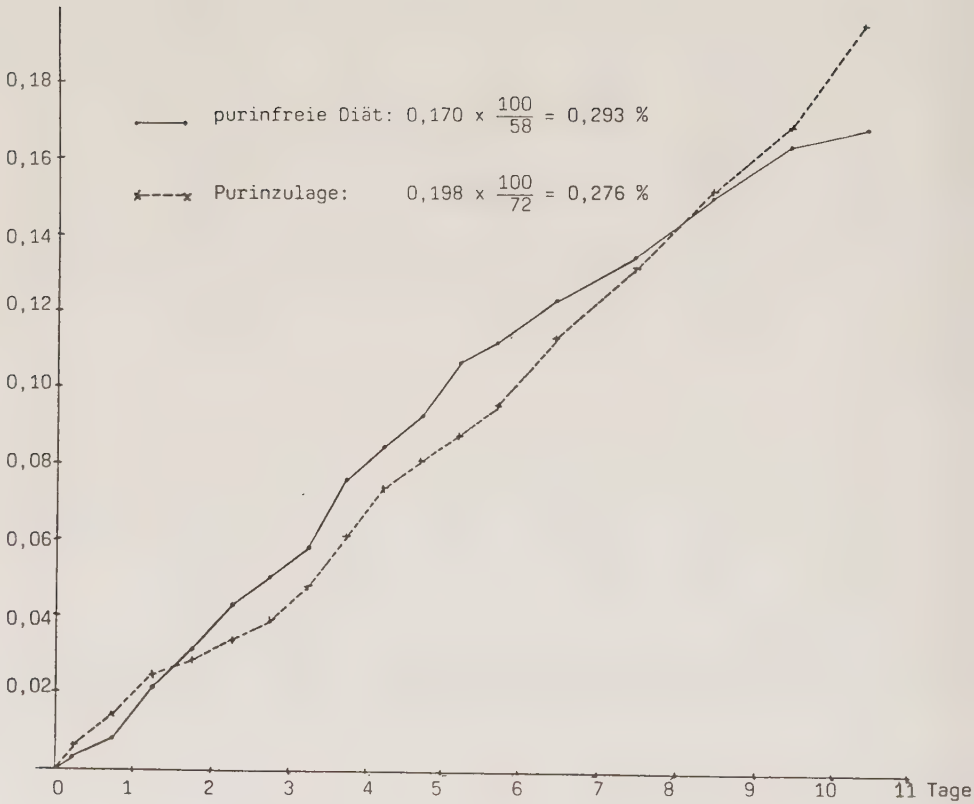


Abb. 9: Kumulative Darstellung der ^{15}N -Ausscheidung in mg bei der Versuchsperson B.G.

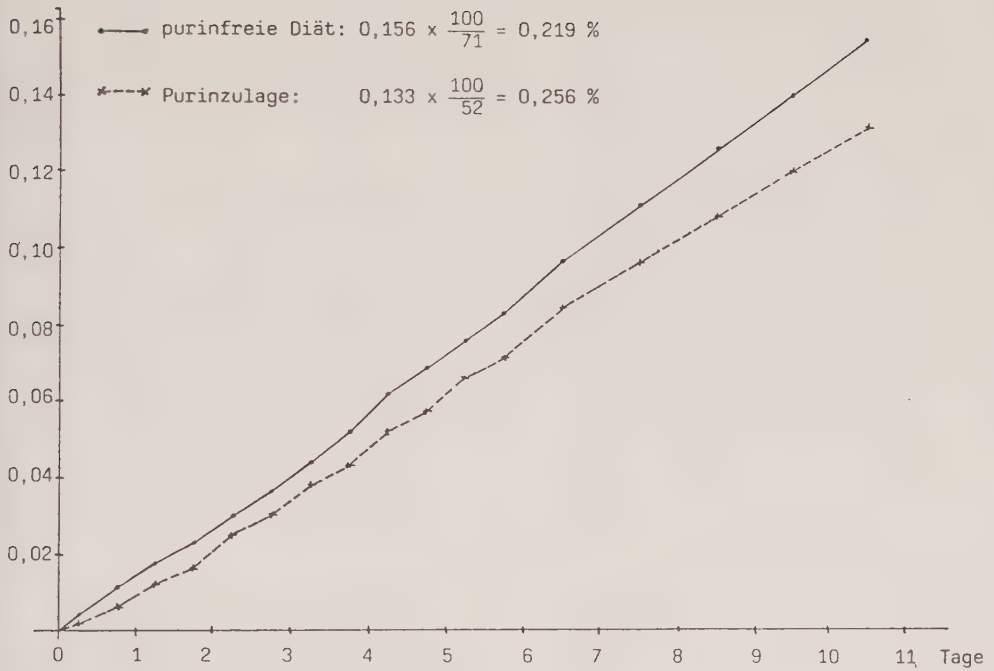


Abb. 10: Kumulative Darstellung der ^{15}N -Ausscheidung in mg bei der Versuchsperson K.M.

4. Diskussion

4.1. Harnsäurepool und Harnsäureumsatz gesunder junger Versuchspersonen

Die Größe des Harnsäurepools, der Gesamtmenge der im Körper vorhandene Harnsäure, ist der Plasmakonzentration proportional, solange nicht Harnsäure in ungelöster Form abgelagert ist. Zwischen Poolgröße und Plasmakonzentration läßt sich ein statistisch hochsignifikanter Zusammenhang nachweisen (Scott et al., 1969). Entsprechend der niedrigeren Plasmakonzentration ist bei Frauen vor der Menopause der Harnsäurepool kleiner als bei Männern (Tab. 11). Der Geschlechtsunterschied liegt ungefähr in der Größenordnung des Unterschiedes der mittleren Plasmakonzentration gesunder Versuchspersonen unter purinfreier Formeldiät (Löffler et al., 1983).

Unter purinfreier Formeldiät war der Harnsäurepool der männlichen Versuchsperson K.M. mit 732 mg kleiner als nach den aus der Literatur (Tab. 20) bekannten Werten zu erwarten war. Da auch die Plasmaharnsäurekonzentration dieser Versuchsperson niedriger lag, ist dieser Unterschied nicht auf methodische Fehler bei Anwendung der Isotopenverdünnungstechnik, sondern auf die unterschiedlichen Diätformen zurückzuführen. Vergleicht man die bisher veröffentlichten mit unseren Ergebnissen, so kann man schließen, daß andere Untersucher eine höchstens purinarmer Diät verabreichten. Allerdings lag die Poolgröße der weiblichen Versuchsperson B.G. (Tab. 11) im Bereich der in der Literatur mitgeteilten Werte (Tab. 20).

Die endogene Harnsäurebildung wird durch den Zellumsatz bestimmt und nimmt deshalb bei Normalgewichtigen mit steigendem Körpergewicht zu. Bei 19 der 46 gesunden Männer der Tabelle 20, deren Körpergewicht in der Literatur mitgeteilt war, ergab die Berechnung der linearen Regression und Korrelation eine statistisch signifikante Beziehung zwischen Körpergewicht und Poolgröße ($y = 14,5 \times + 68,8$; $r = 0,51$; $p < 0,05$). Bei den gleichen Versuchspersonen bestand zwischen Körpergewicht und fraktionellem Umsatz des Pools kein Zusammenhang. Dies war zu erwarten, wenn man berücksichtigt, daß bei unverändertem Plasmaspiegel Poolgröße und Ausscheidung der Harnsäure in gleichem Maße mit dem Körpergewicht zunehmen. In diesem Fall bleibt auch der Quotient aus beiden Größen,

	n	A (mg)	k (1/Tag)	$\frac{A \times k}{U \times V} \times 100$ (%)
Gesunde				
Frauen	5	616 ± 33	0,86 ± 0,10	71 ± 15
Männer	46	1163 ± 223	0,64 ± 0,14	65 ± 12
Patienten				
Hyperurikämie ¹	7	1693 ± 289	0,51 ± 0,13	58 ± 18
Gicht, normale Nierenfunktion ¹	43	2348 ± 422	0,46 ± 0,11	54 ± 15
Sekundäre Gicht bei Niereninsuffizienz ²	16	1989 ±	0,33 ± 0,09	35 ± 12

Tab. 20: Pool, Umsatz und fraktionale renale Ausscheidung der Harnsäure bei Gruppen von Gesunden und Patienten mit unterschiedlicher renaler Harnsäureclearance.

¹ Nur Männer

² Untersuchungen von Sorensen (1980). Die übrigen Daten wurden aus der Literatur zusammengefaßt.

Nach Löffler et al. (1983).

der fraktionelle Umsatz des Pools, konstant. Der fraktionelle Umsatz k des Harnsäurepools ist somit bei Gesunden ein von der Körpermasse unabhängiges Maß für die Ganzkörperclearance der Harnsäure, während die Berechnung der renalen Clearance bei gleicher Plasmakonzentration mit zunehmender Ausscheidung (größerem Körpergewicht) zunehmend größere Werte ergibt.

Der fraktionelle Umsatz des Harnsäurepools war bei der weiblichen Versuchsperson B.G. sowohl unter purinfreier Diät als auch unter Purinzulage ungefähr gleichgroß wie bei K.M. Demgegenüber wurde bei einer früheren Untersuchung im gleichen Labor bei einer gleichaltrigen weiblichen Versuchsperson mit 0,82/Tag unter purinfreier Diät ein wesentlich höherer Umsatz gefunden, der mit Literaturangaben (Tab. 20) übereinstimmt. Aufgrund der durchschnittlich höheren renalen Harnsäureclearance der Frauen war bei B.G. ein im Vergleich zu Männern höherer fraktioneller Umsatz des Pools zu erwarten.

In Tabelle 21 sind die Ergebnisse der vorliegenden sowie einer früheren Untersuchung im gleichen Labor (Kleiber, 1983; Neubert, 1983) zusammengefaßt. Es fällt auf, daß die Poolgröße der Harnsäure unter Nukleotidzulage bei den weiblichen Versuchspersonen um 29 und 83, bei den männlichen um 133, 134 und 137 % zunahm. Im Durchschnitt aller 5 Versuchspersonen waren dies 103 Prozent. Die Plasmaharnsäure, die der Poolgröße proportional ist, nahm dagegen nur um durchschnittlich 69 Prozent zu. Ein stärkerer Anstieg der nach dem Isotopenverdünnungsprinzip gemessenen Poolgröße als der Plasmakonzentration könnte bedeuten, daß der Verteilungsraum der Harnsäure mit steigendem Plasmaspiegel zunimmt. Berücksichtigt man noch die beiden von Bowering et al. (1969) unter Zulage von Ribonukleinsäure untersuchten gesunden Männer, so ist die mittlere Differenz zwischen Anstieg der Poolgröße und Anstieg der Plasmakonzentration beim intraindividuellen Vergleich von purinfreier Diät und Purinzulage nur wenig geringer (Tab. 22). Bisher gibt es in der Literatur keine weiteren Hinweise auf eine Vergrößerung des Harnsäureraumes mit steigendem Plasmaspiegel.

Nach der Zusammenstellung in Tabelle 21 nahm unter Purinzufuhr der fraktionelle Umsatz des Pools, also die Gesamtkörperclearance, um durchschnittlich 40, die renale Clearance um 69 % zu. Die Ganzkörperclearance setzt sich im Falle der Harnsäure aus renaler und en-

Versuchspersonen

	1 w	2 m	3 m	4 w	5 m	$\bar{x}$
I	II	I	II	I	II	I
II	I	II	I	II	I	II
Plasmakonzentration (mg/100 ml)	2,8 4,7	3,5 5,6	4,1 5,8	4,0 6,1	3,2 7,1	3,5 5,9
Pool (mg)	569 736	684 1592	562 1325	805 1477	728 1727	670 1371
Clearance renal (ml/min x 1,73 m ²)	6,6 9,5	5,2 9,2	4,4 8,5	4,2 9,7	7,2 9,5	5,5 9,3
Turnover des Pools (1/Tag)	0,82 1,21	0,66 0,81	0,63 0,85	0,52 0,80	0,64 0,88	0,65 0,91
A x k (mg/Tag)	467 891	451 1290	354 1290	419 1182	459 1520	430 1202
$\frac{U \times V}{A \times k} \times 100$	51 64	61 59	79 62	58 72	72 64	64 64

Tab. 21: Zusammenfassung der nach dem Isotopenverdünnungsprinzip indirekt ermittelten Ergebnisse und Vergleich mit direkt bestimmten Parametern des Harnsäurestoffwechsels (siehe Text). Versuchsperson 4 und 5 entsprechen den in dieser Arbeit untersuchten Versuchspersonen B.G. und K.M.

Versuchsperson	A_{II}/A_I	P_{II}/P_I
1	1,29	1,68
2	2,33	1,60
3	2,34	1,41
4	1,83	1,53
5	2,36	2,22
Bowering et al. (1969)	2,0	2,31
	2,06	1,69
$\bar{x} \pm SD$	$2,03 \pm 0,36$	$1,78 \pm 0,32$

Tab. 22: Vergleich des Anstiegs der Poolgröße (A_{II}/A_I) mit dem Anstieg der Plasmakonzentration (P_{II}/P_I) bei Zulage von Purinen (II) zu purinfreier Diät (I). Versuchspersonen 1-5 siehe Legende zu Tabelle 21 und Text Seite 50.

teraler Clearance zusammen. Nimmt die Ganzkörperclearance unter bestimmten Bedingungen weniger zu als die renale, so weist dies darauf hin, daß die untersuchten Bedingungen die enterale Clearance nicht oder nur wenig steigerten. Orale Purinzufuhr scheint nach den bei unseren Versuchspersonen ermittelten Werten somit ausschließlich oder überwiegend zu einer Steigerung der renalen Harnsäureclearance zu führen.

Stehen zwei Ausscheidungswege zur Verfügung und wird unter Purinzulage lediglich der erste der beiden Wege vermehrt beschritten (erhöhte renale Clearance), so führt dies definitionsgemäß bei unveränderter Synthese zu einer mengenmäßig größeren Ausscheidung über den ersten (Nieren) und einer geringeren über den zweiten Weg (Darm). D.h. die fraktionelle renale Harnsäureausscheidung über die Nieren müßte nach dem oben Gesagten unter Purinzufuhr erhöht sein. Wie Tabelle 21 zeigt, war jedoch die durchschnittliche fraktionelle Harnsäureausscheidung unter Purinzulage unverändert (purinfreie Diät und Nukleotidzulage jeweils 64 % renal, 36 % enteral).

Diese unveränderten Durchschnittswerte kommen bei näherer Betrachtung dadurch zustande, daß bei den beiden untersuchten Frauen die fraktionelle renale Ausscheidung unter Purinzufuhr von 51 auf 64 bzw. von 58 auf 72 % zunahm, während sie bei den Männern unverändert blieb oder abnahm (durchschnittlich Abnahme um 9 %). Eine Erklärung dafür könnte sein, daß bei vermehrter Harnsäurebildung Frauen die renale Clearance besser zu steigern vermögen als Männer. Eine Abnahme der renalen und Zunahme der enteralen fraktionellen Ausscheidung bei den Männern müßte dann allerdings mit einer Zunahme der enteralen Clearance, also stärkerer Zunahme des fraktionellen Umsatzes des Pools als der renalen Clearance, einhergehen, was nach den in Tabelle 21 aufgeführten Ergebnissen nicht zutrifft. Die durchschnittlich niedrigere Plasmaharnsäure der Frauen wird auf eine erhöhte renale Clearance als Folge der urikosurischen Wirkung von östrogenen zurückgeführt (Nicholls et al., 1973; Adamopoulos et al., 1977). Bei Frauen ist deshalb eine durchschnittlich höhere Ganzkörperclearance sowie eine Umverteilung der Harnsäureausscheidung zugunsten der renalen zu erwarten, was unsere Ergebnisse zu bestätigen scheinen. Faßt man jedoch die in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse von Isotopenuntersuchungen zusammen (Tab. 20), so findet sich zwar bei den Frauen ein statistisch hoch

signifikant ($p < 0,01$) größerer fraktioneller Umsatz des Harnsäurepools als bei den Männern. Die fraktionelle renale Harnsäureausscheidung ist dagegen nur gering verschieden (nicht signifikant).

Nach dieser Berechnung würde also der Mechanismus, der bei Frauen zu einer im Vergleich zu den Männern niedrigeren Plasmaharnsäure führt, die Harnsäureausscheidung über Nieren und Darm in gleicher Weise beeinflussen. D.h. östrogene beeinflussen den Harnsäuretransport überall dort, wo diese sezerniert wird. Im strengen Sinne handelt es sich demnach nicht um eine urikosurische, d.h. ausschließlich die renale Ausscheidung beeinflussende Wirkung.

Die Darstellung der Ergebnisse der 5 Versuchspersonen in Tabelle 21 zeigte mehrere Widersprüche auf. Bedenkt man den großen Bereich, in dem sich Werte der renalen Harnsäureclearance von gesunden Männern und Frauen sowie von gesunden Männern und Gichtpatienten überlappen (mit der Folge, daß in vielen Fällen die klinisch eindeutigen Unterschiede nach den Gesetzen der Statistik nicht bestehen), so ist leicht einzusehen, daß bei insgesamt 5 Untersuchungen keine eindeutige Aussagen möglich sind.

Die angeführten Widersprüche sind möglicherweise zum Teil auf die Ergebnisse bei der weiblichen Versuchsperson B.G. zurückzuführen. Diese wies für den fraktionellen Umsatz des Pools sowohl unter purinfreier Diät als auch unter Purinzulage die niedrigsten Werte aller 5 Versuchspersonen auf. Ihre Plasmaharnsäure betrug im Stoffwechselgleichgewicht unter purinfreier Formeldiät 3,5 mg/100 ml und lag damit im oberen Normbereich der für gesunde Frauen ermittelten Werte ($3,0 \pm 0,5$ mg/100 ml) (Löffler et al., 1983). Die Berechnung der renalen Clearance unter purinfreier Diät ergab mit $4,2 \text{ ml/min.} \times 1,73 \text{ m}^2$ den niedrigsten Wert aller 5 Versuchspersonen. Es sprechen somit mehrere Parameter dafür, daß diese Versuchsperson den tubulären Sekretionsdefekt für Harnsäure geerbt hat und möglicherweise nach der Menopause eine Hyperurikämie entwickeln wird.

4.2. Endogene Harnsäurebildung unter Zufuhr von Nahrungspurinen

Der Einbau von in Substraten der Purinbiosynthese enthaltenen Isotopen in die Harnsäure ist von vielen Variablen abhängig. Für derartige Untersuchungen wird üblicherweise markiertes Glyzin verwendet. Für alle Substanzen gilt gleichermaßen, daß die Veränderung der Poolgröße des markierten Substrats zu Artefakten beim Isotopeneinbau in die Harnsäure führt, die die Interpretation der Ergebnisse schwierig, manchmal unmöglich machen.

Prinzipiell können Schlüsse sowohl aus der in der Harnsäure entstehenden Isotopenkonzentration als auch aus dem kumulativen Isotopeneinbau in die Harnsäure gezogen werden. Ist die endogene Harnsäurebildung erhöht, so geht dies mit einer Zunahme der Isotopenkonzentration einher. Die kumulative Isotopenausscheidung als Urinharnsäure ist ebenfalls erhöht, sofern die untersuchten Bedingungen die anteilige Harnsäureausscheidung über Nieren und Darm nicht verändern oder die fraktionelle renale Ausscheidung zunimmt. Wird die endogene Harnsäurebildung stimuliert und gleichzeitig die renale Ausscheidung gehemmt, was zum Beispiel unter hohen Dosen von Fruktose möglich ist, so kann trotz erhöhter Isotopenkonzentration in der Harnsäure die kumulative renale Isotopenausscheidung als Harnsäure unverändert oder vermindert sein.

Andererseits kann die endogene Harnsäurebildung unverändert, die fraktionelle renale Ausscheidung aber erhöht oder vermindert sein. In diesem Falle nimmt bei unveränderter Isotopenkonzentration der Urinharnsäure die kumulative renale Isotopenausscheidung zu oder ab. Es ist deshalb unumgänglich, bei der Untersuchung des Isotopeneinbaus in die Harnsäure gleichzeitig mit einem zweiten Isotop den Gesamtumsatz der Harnsäure zu messen.

Wird der Einfluß von Purinen auf die endogene Harnsäurebildung mittels ^{15}N -Glyzin untersucht, so steht beim Vergleich der purinfreien Diät mit der Purinzulage das Kriterium der Isotopenkonzentration der Urinharnsäure (^{15}N -Konzentration) wegen Verdünnung durch exogene Purine nicht zur Verfügung. Die Frage, ob orale Purinzufuhr die endogene Harnsäurebildung zu hemmen vermag, muß deshalb allein

anhand der kumulativen Isotopenausscheidung in Form von Harnsäure beantwortet werden.

Purine hemmen in vitro in verschiedenen biologischen Systemen die Purinbiosynthese durch negative Rückkopplung (Abrams, 1951; Gots, 1957; Henderson, 1962; Nierlich und Magasanik, 1965). Der Verlauf der renalen kumulativen ^{15}N -Ausscheidung als Harnsäure bei Versuchsperson K.M. läßt ebenfalls eine Hemmung der endogenen Harnsäurebildung durch orale Purinzufuhr vermuten (Abb. 10), während sich die bei Kurven der Versuchsperson B.G. nicht sicher unterscheiden (Abb. 9). Die Berechnung der kumulativen Gesamtausscheidung erlaubt jedoch die Schlußfolgerung, daß die endogene Harnsäurebildung durch orale Purinzufuhr nicht gehemmt wird. Setzt man dies als gegeben voraus und betrachtet die Differenz der ^{15}N -Ausscheidung ohne und mit Purinzulage als Ausdruck methodischer Fehler, so läßt sich daraus eine Fehlerbreite von ungefähr 20 % bei derartigen Einbaustudien ableiten.

Unsere Ergebnisse unterstützten die Schlußfolgerung Zöllners und Gröbners (1977) aus Bilanzuntersuchungen von Nugent und Tyler (1959) Zöllner et al. (1972) und anderen, daß oral zugeführte Purine beim Menschen die Purinbiosynthese insgesamt, gemessen anhand des Harnsäureumsatzes, nicht beeinflussen. Sie stehen im Widerspruch zu einer von Seegmiller et al. (1968) mit Adenin als Purinzulage durchgeführten Untersuchung. Dabei wurde durch die orale Adeninzufuhr (14,85 mg/kg als Bolus) der Einbau von ^{15}N aus Glyzin in die Harnsäure (kumulative Ausscheidung in 7 Tagen) bei zwei gesunden Versuchspersonen um die Hälfte bzw. drei Viertel, bei 3 Patienten mit Gicht um 31, 41 und 55 Prozent vermindert.

Dieser Widerspruch kann folgendermaßen erklärt werden: Oral zugeführte Purine, überwiegend RNS, DNS und energiereiche Phosphate beziehungsweise ihre Abbauprodukte, werden teils im Darmlumen, teils in der Darmwand gespalten (Gröbner, 1979). Ein Teil wird möglicherweise bereits in der Darmmukosa, die sämtliche dazu erforderlichen Enzyme enthält, zu Harnsäure oxydiert, diese danach ins Darmlumen und/oder in die Blutbahn abgegeben. Wie aus dem Anstieg der Xanthinoxidaseaktivität der menschlichen Leber nach mehrwöchiger RNS-Zufuhr (Marcolongo et al., 1974) geschlossen werden kann, gelangt ein Teil der Purine noch vor dem vollständigen Abbau

in dieses Organ. Für sämtliche Nukleotide, Nukleoside und Basen stehen dort mindestens zwei Möglichkeiten der Verstoffwechselung offen.

Die einzige Ausnahme bildet das Adenin, für das zwar unter in vitro-Bedingungen, nicht aber in vivo zwei Wege existieren. In vivo wird Adenin fast vollständig mit Hilfe der Adenin-Phosphoribosyltransferase zu AMP aufgebaut. Die in vitro mögliche Oxydation zu 2,8-Dihydroxyadenin wurde beim gesunden Menschen nicht beobachtet (Simmonds und von Acker, 1983).

Es ist deshalb vorstellbar, daß im Gegensatz zu anderen Purinen eine große orale Einzeldosis von Adenin zu einer vorübergehenden Verstärkung der negativen Rückkopplungshemmung der Purinbiosynthese und damit vermindertem Isotopeneinbau in die Harnsäure führt. Diese Versuchsanordnung ist jedoch mit der Zufuhr einer Vielzahl verschiedener Purine, wie sie in einer gemischten Kost vorliegen, nicht vergleichbar. Gegen die Schlußfolgerungen von Seegmiller und Mitarbeitern spricht, daß orale Adeninzufuhr bei Bilanzuntersuchungen zu einem raschen Anstieg der Harnsäure- und der Gesamtpurinausscheidung führt, wobei im Tierversuch zwei Drittel (Potter et al., 1980), beim Menschen die orale Dosis nahezu quantitativ (Gröbner und Zöllner, unveröffentlicht) in Form von Hypoxanthin, Xanthin sowie Harnsäure + Allantoin bzw. Harnsäure allein im Urin gefunden wurden.

5. Zusammenfassung

Unter purinfreier, isoenergetischer Formeldiät wurde der Einfluß oraler Purinzufuhr auf den Einbau ^{15}N -markierten Glyzins in die Urinharnsäure bei zwei gesunden Versuchspersonen untersucht. Gleichzeitig erfolgte mittels i.v. Injektion ^{13}C -markierter Harnsäure die Bestimmung von Poolgröße und Umsatz der Harnsäure. Die ^{15}N -Ausscheidung als Urinharnsäure wurde auf die Gesamtharnsäureausscheidung bezogen. Zur massenspektrometrischen Messung des Isotopengehalts der Urinharnsäure wurde diese säulenchromatographisch aus den Sammelurinen isoliert und durch Umkristallisieren gereinigt.

Die Ergebnisse zeigen, daß orale Purinzufuhr keinen Einfluß auf den Einbau markierten Glyzins in die Harnsäure ausübt, die endogene Harnsäurebildung also nicht gehemmt wird. Der fraktionelle Umsatz des Harnsäurepools wird durch orale Purinzufuhr gesteigert, was aufgrund der Zunahme der renalen Clearance zu erwarten war. Unter Einbeziehung der Ergebnisse früherer Untersuchungen mit gleicher Methodik ergaben sich Hinweise auf unterschiedliches Verhalten von gesunden Männern und Frauen bezüglich der renalen Harnsäureausscheidung unter oraler Purinzufuhr.

6. Literaturverzeichnis

1. Abrams, R.: Some factors influencing nucleic acid purine renewal in the rat. Arch. Biochem. Biophys. 33, 430 (1951)
2. Adamopoulos, D., Vlassopoulos, C., Seitanides, B., Contoyiannis, P., Vassilopoulos, P.: The relationship of sex steroids to uric levels in plasma and urine. Acta Endocrinol. 85, 198 (1977)
3. Benedict, J.D., Forsham, P.H., Stetten, D. Jr.: The metabolism of uric acid in the normal and gouty human studied with the aid of isotopic uric acid. J. Biol. Chem. 181, 183 (1949)
4. Bowering, J., Calloway, D.H., Margen, S., Kaufmann, N.A.: Dietary protein level and uric acid metabolism in normal man. J. Nutr. 100, 249 (1969)
5. Burian, R., Schur, H.: Über die Stellung der Purinkörper im menschlichen Stoffwechsel. Pflügers Archiv 80, 241 (1900)
6. Du Bois, D., Du Bois, E.F.: Nomogramm zur Bestimmung der Körperoberfläche. Arch. intern. Med. 17, 863 (1916)
7. Garrod, A.B.: Observations on certain pathological conditions of the blood and urine in gout, rheumatism and Bright's disease. Trans. Med. Chir. Soc. 31, 83 (1848)
8. Gots, J.S.: Purine metabolism in bacteria. v. Feed back inhibition J. Biol. Chem. 228, 57 (1957)
9. Griebisch, A., Zöllner, N.: Normalwerte der Plasmaharnsäure in Süddeutschland. Vergleich mit Bestimmungen vor zehn Jahren. Z. klin. Chem. klin. Biochem. 11, 346 (1973)
10. Gröbner, W.: Harnsäurebildung im Körper. In: Zöllner, N. (Hrsg.): Hyperurikämie und Gicht, Bd. I. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 50 (1980)

11. Gröbner, W., Zöllner, N.: Uricosurica. In: Zöllner, N., Gröbner, W. (Hrsg.): Gicht, Handbuch der inneren Medizin, Bd. 7/III. Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1976)
12. Gröbner, W., Löffler, W., Zöllner, N.: Der Einfluß verschiedener Nahrungspurine und -pyrimidine auf die Xanthinoxidaseaktivität des menschlichen Dünndarms. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 85, 659 (1979)
13. Henderson, J.F.: Feedback inhibition of purine biosynthesis in ascites tumor cells. J. Biol. Chem. 237, 2631 (1962)
14. Holmes, E.W., Wyngaarden, J.B., Kelley, W.N.: Human glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase: Two molecular forms interconvertible by purine ribonucleotides and phosphoribosylpyrophosphate. J. Biol. Chem. 248 (1973)
15. Johnson, L.A., Emmerson, B.T.: Isolation of crystalline uric acid from urine, for urate pool of turnover measurements. Clin. Chem. Acta 41, 389 (1972)
16. Kleiber, W.: Harnsäurepool, Harnsäureumsatz und Harnsäureausscheidung beim Gesunden unter isoenergetischer purinfreier Formeldiät. Dissertation, München (1984)
17. Löffler, W.: Harnsäurepool und Harnsäureumsatz. In: Zöllner, N. (Hrsg.): Hyperurikämie und Gicht, Bd. I. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 50 (1980a)
18. Löffler, W.: Harnsäurekonzentration in Serum und Geweben. In: Zöllner, N. (Hrsg.): Hyperurikämie und Gicht, Bd. I. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 50 (1980b)
19. Löffler, W.: Langzeittherapie der Hyperurikämie und Gicht. Therapiewoche 33, 6195 (1983)

20. Löffler, W., Gröbner, W., Medina, R., Zöllner, N.: Untersuchungen des Harnsäurestoffwechsels Gesunder unter oraler Purinbelastung mit Hilfe stabiler Isotopen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 86, 926 (1980a)
21. Löffler, W., Gröbner, W., Zöllner, N.: Influence of dietary protein on serum and uric acid. Adv. exp. Med. Biol. 122 A, 209 (1980b)
22. Löffler, W., Gröbner, W., Zöllner, N.: Nutrition and uric acid metabolism: Plasma level, turnover, excretion. Fortschr. Urol. Nephrol. 16, 8 (1981)
23. Löffler, W., Gröbner, W., Medina, R., Zöllner, N.: Influence of dietary purines on pool size, turnover, and excretion of uric acid during balance conditions. Res. Exp. Med. (Berl.) 181, 113 (1982)
24. Löffler, W., Simmonds, H.A., Gröbner, W.: Gout and uric acid nephropathy: Some new aspects in diagnosis and treatment. Klin. Wochenschr. 61, 1233 (1983a)
25. Löffler, W., Gröbner, W., Zöllner, N.: Harnsäuresenkende Wirkung einer Kombination von Benzbromaron und Allopurinol - Untersuchungen unter standardisierten Ernährungsbedingungen. Arzneim.-Forsch./ Drug Res. 33, 1687 (1983b)
26. Löffler, W., Gröbner, W., Wolfram, G., Zöllner, N.: Die endogene Harnsäuresynthese des Menschen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 89, 678 (1983c)
27. Marcolongo, R., Marinello, E., Pompucci, G., Pagani, R.: The role of xanthine oxidase in hyperuricemic states. Arthr. Rheum. 17, 430 (1974)
28. Neubert, P.: Einfluß exogen zugeführter Nukleotide auf Harnsäurepool, Harnsäureumsatz und Harnsäureausscheidung. Dissertation, München (1984)

29. Nicholls, A., Snaith, M.L., Scott, J.T.: Effect of östrogen therapy on plasma and urinary levels of uric acid. Brit. Med. J. I, 449 (1973)
30. Nierlich, D.P., Magasanik, B.: Regulation of purine ribonucleotide synthesis by end product inhibition. The effect of adenine and guanine ribonucleotides on the 5-phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase of aerobacteraerogenes. J. Biol. Chem. 240, 358 (1965)
31. Nugent, C.A., Tyler, F.H.: The renal excretion of uric acid in patients with gout and in nongouty subjects. J. Clin. Invest. 38, 1890 (1959)
32. Potter, C.F., Cadenhead, A., Simmonds, H.A., Cameron, J.S.: Differential absorption of purine nucleotides, nucleosides and bases. Adv. exp. Med. Biol. 122 A, 203 (1980)
33. Scott, J.T., Holloway, V.P., Glass, H.I., Arnot, R.N.: Studies of uric acid pool size and turnover rate. Ann. Rheum. Dis. 28, 366 (1969)
34. Seegmiller, J.E., Klinenberg, J.R., Miller, J., Watts, R.W.E.: suppression of glycine-¹⁵N incorporation into urinary uric acid by adenine-8-¹³C in normal and gouty subjects. J. Clin. Invest. 47, 1193 (1968)
35. Simmonds, H.A., Van Acker, K.J.: Adenin phosphoribosyltransferase deficiency: 2,8-dihydroxyadenine lithiasis. In: Stanbury, W.N., Wyngaarden, J.B., Frederickson, D.S., Goldstein, J.L., Brown, M.S. (Hrsg.): The matabolic basis of inherited disease. 5. Auflage, McGraw-Hill, New York, 1144 (1983)
36. Sorensen, L.B.: Gout secondary to chronic renal disease: Studies on urate metabolism. Ann. Rheum. Dis. 39, 424 (1980)
37. Winkler, F.J., Schmidt, H.L.: Einsatzmöglichkeit der ¹³C-Iso-
topen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171, 85 (1980)

38. Wyngaarden, J.B., Kelley, W.N.: Gout and hyperuricemia. New York, San Francisco, London: Grune & Stratton (1976)
39. Zöllner, N.: Energiestoffwechsel. In: Zöllner, N. (Hrsg.): Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, 2. Auflage, Seite 2 - 87, Thieme, Stuttgart (1957)
40. Zöllner, N.: Moderne Gichtprobleme. Ätiologie, Pathogenese, Klinik. Erg. Inn. Med. Kinderheilk. 14, 321 (1960)
41. Zöllner, N.: Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 178 (1963)
42. Zöllner, N., Griebisch, A., Gröbner, W.: Einfluß verschiedener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel. Ernährungs-Umschau 3, 79 (1972)
43. Zöllner, N., Gröbner, W.: Dietary feedback regulation of purine and pyrimidine biosynthesis in man. Ciba Found. Symp. 48, 165 (1977)

Mein Dank gilt Herrn
Professor Dr. N. Zöllner,
der mir die Möglichkeit gab,
meine Arbeit an seiner Klinik
durchzuführen.

Mein Dank gilt vor allem auch
Herrn Professor Dr. W. Gröbner,
der mir freundlicherweise das
Thema der Arbeit überließ.

Herr Dr. W. Löffler stand mir mit
seinem Rat und seiner Aufmerksamkeit
stets zur Seite und korrigierte
freundlicherweise meine Arbeit.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Vor- und Zuname	Bibiana Gondokusumo-Zenker
geboren am	02.12.1951 in Semarang, Indonesien
Eltern	Amir Gondokusumo, Oberst Julinah Gondokusumo, geb. Mangunsoedarmo
Familienstand	verheiratet
Staatsangehörigkeit	indonesisch
Konfession	römisch-katholisch

Darstellung des beruflichen Werdeganges

1957-1958	Vorschule Sancta Ursula, Jakarta
1958-1964	Volksschule Sancta Angela, Jakarta
April 1964	Tod meiner Mutter
1964-1970	Besuch des Gymnasiums Sancta Ursula, Jakarta Abschluß: Abitur
November 1970-Juli 1971	Schreibmaschinenkurs mit Abschlußdiplom und Vorbereitungen zur Abreise in die BRD mit dem Ziel, Medizin zu studieren
Juli 1971-September 1971	Ankunft in Deutschland und Deutschkurs in München
September 1971	Tod meines Vaters Aufgrund meiner plötzlich veränderten Situation (Vollwaise ohne finanzielle Versorgung) Entschluß zur Ausbildung als Krankenschwester zur Sicherung des Lebensunterhalts
1971-1974	Krankenpflegeschule im Kreiskrankenhaus Perlach-München Gleichzeitiger Besuch des Deutschen Sprachkurses für Ausländer an der Ludwig-Maximilians-Universität München Abschluß: Examen der Oberstufe
12. August 1974	Abschluß der Krankenpflegeschule mit Staatsexamenszeugnis
1974-1975	Besuch des zweisemestrigen Studienkolleges in München
Wintersemester 1975/1976	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München Zur Finanzierung des Studiums gleichzeitige Tätigkeit als Krankenschwester
Frühjahr 1979	Beginn der Tätigkeit in der Forschungsgruppe an der Universität der Bundeswehr
10. März 1980	Kleines Deutsches Sprachdiplom des Goethe-Instituts
Herbst 1980	Volkshochschule-Zertifikat in Englisch
Wintersemester 1980/1981	Beginn einer experimentellen Doktorarbeit unter Prof. Dr. Zöllner an der medizinischen Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Frühjahr 1982	Nach Beendigung des Arbeitsabschnittes des Projekts "Herzklappen und künstliche Herzen" Mitarbeit am Projekt "Blutgerinnung" und zusätzlich Durchführung von optischen Untersuchungen an Humanvollblut in der Forschungsgruppe an der Universität der Bundeswehr
08. November 1983	Abschluß des Studiums der Humanmedizin mit Staatsexamen
November 1983 bis	Verstärkte Mitarbeit in der Forschungsgruppe. Koautor
30. Juni 1985	einer Arbeit über "Optische Untersuchungen an Humanvollblut" (Biomed. Technik 30, 1985)
Von 01. Juli 1985 bis jetzt	Umzug nach Nordwürttemberg

